

Aus der Dermatologischen Klinik der Universität München

Direktor: Professor Dr. med. O. Braun-Falco

Die benigne Hyperplasie
der Meerschweinchenepidermis
nach lokaler Hexadecan - Applikation
Autoradiographisch - Zytokinetische Untersuchungen

Inaugural Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
CHRISTINE MÜLLER
aus Richterich bei Aachen

1971

München 1970

Aus der Dermatologischen Klinik der Universität München

Direktor: Professor Dr. med. O. Braun-Falco

Die benigne Hyperplasie
der Meerschweinchenepidermis
nach lokaler Hexadecan - Applikation
Autoradiographisch - Zytokinetische Untersuchungen

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

CHRISTINE MÜLLER

aus Richterich bei Aachen

München 1970

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. med. E. Christophers

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. O. Braun-Falco

Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 16. Februar 1971



CHRISTINE MÖLLER

Inhaltsübersicht

I. Einleitung

II. Material und Methoden

III. Ergebnisse

A. Makroskopisches Bild

B. Histologische Ergebnisse

C. Autoradiographische Ergebnisse

D. Quantitative Ergebnisse

a) Flächen - bzw. Volumenmessungen

b) Basalmembranlänge

c) Messung der proliferativen Aktivität

d) Hexadecan-Wirkung nach Hornschichtabriß

e) Messung der epidermalen Erneuerungszeit

f) Messung der S-Phasendauer

IV. Besprechung der Ergebnisse

A. Experimentelle Hyperplasie

B. Gestaltwandel

C. Verkürzung der Generationszeit

D. Wirkungsmechanismus

V. Zusammenfassung

VI. Literaturverzeichnis

I. Einleitung

Die Epidermis des Meerschweinchens besteht an der dorsalen wie an der ventralen Seite des Ohres aus 4 - 5 nichtverhornten Zellagen mit fast gradliniger Begrenzung zur Cutis und einem deutlich ausgeprägten, 1 - 2 Schichten umfassenden Stratum granulosum. Die Ohrhaut weist einen dünnen, nicht synchronisierten Harrbestand auf.



Abb. 1

Epidermis des unbehandelten Meerschweinchenohres
Autoradiographie

Die Epidermis gehört zu den Mausergeweben, deren besondere Eigenschaften in der Einteilung von MESSIER und LEBLOND berücksichtigt werden (66). Die genannten Autoren klassifizieren sämtliche Körperzellen nach Regenerationsvermögen und Differenzierungszeit in:

- a) statische Gewebe (z.B. Nervenzellen), die bei Stimulation lediglich mit einer Hypertrophie der Einzelzelle zu reagieren vermögen.
- b) wachsende Gewebe (z.B. Drüsen), die durch Stimulation zur Zellteilung angeregt werden.

- c) Mausergewebe (z.B. Epidermis, Epithelien des Darmes, blutbildendes Knochenmark), die den hohen, physiologischen Zellverlust durch kontinuierliche Zellteilungen ausgleichen.

Die zuletzt aufgeführte Gruppe unterscheidet sich im wesentlichen durch das Ausmaß ihrer zellregenerativen Potenz (42). Normalerweise besteht an der Epidermis wie an allen übrigen Epithelien ein Gleichgewicht zwischen der proliferativen Aktivität (Zellneubildung pro Zeiteinheit) und dem durch Abstoßung entstehenden Zellverlust. Die Folge ist ein Gleichbleiben der Epidermisdicke.

Zur Charakteristik der Mausergewebe gehört weiterhin eine strenge Einteilung in Funktionszonen, die bei den Epithelien räumlich getrennt angeordnet sind. In der Epidermis bildet die Basalzellschicht den proliferierenden Anteil ("proliferating-pool", p - compartment) und die peripherwärts gelegene, sich in den verschiedenen Verhornungsstadien befindliche Zellpopulation stellt den differenzierenden Gewebeabschnitt ("differentiating-pool", q- compartment) dar (5). Die Hornschicht, der eine Schutzfunktion zur Außenwelt zukommt, bildet das Endprodukt epidermaler Zellsynthesen.

Das Hautorgan antwortet sowohl im Rahmen verschiedener Hauterkrankungen (z.B. Psoriasis vulgaris) als auch bei experimenteller Stimulation mit einer Volumenzunahme der Epidermis durch Vermehrung der Zahl vitaler Zellen. Dies ist durch den Begriff "Akanthose" gekennzeichnet. Zum numerischen Anwachsen der Zellpopulation = Hyperplasie) tritt bei den verschiedenen Akanthoseformen eine Vergrößerung der einzelnen Zellen hinzu Hypertrophie (21, 44, 45, 54, 57, 71, 93). Eine Übersicht endogener und exogener Hyperplasie - Induktoren wie mechanische, chemische und Strahlen findet sich bei STEIGLEDER (83, 84, 85). Vielfach weist eine derart veränderte Epidermis gleichzeitig eine ausgeprägte Orthohyperkeratose auf, oder aber es findet sich eine Parakeratose mit unvollständigem Abbau der Zellkerne im Stratum corneum.

Die Pathogenese der Epidermis - Hyperplasie besteht in einer Störung des physiologischen Gleichgewichtes zwischen Zellneubildung und Zellverlust, entweder in Form einer gesteigerten Epidermopoese (" Proliferations-
akanthose ") oder eines verminderten Zelltodes (" Retentionsakanthose ").

Der zuletzt genannte Mechanismus liegt wahrscheinlich der Hyperplasieentwicklung bei Röntgenbestrahlung oder luftdichtem Abschluß der Haut zugrunde. Dabei ist trotz Zunahme der epidermalen Zellzahl eine relative Depression der mitotischen Aktivität nachweisbar (43, 44, 45).

Eine Verschiebung des genannten Gleichgewichtes durch hochgradige Zellneubildung ist weitaus häufiger. Diese Form zeigt sich besonders bei der Hyperplasieentwicklung nach mechanischer und chemischer Stimulation der Epidermis, wobei der Verwendung von langkettigen Kohlenwasserstoffen und chemisch verwandten Substanzen eine besondere Bedeutung zukommt. Wie teilweise durch die Bestimmung der Mitoserate festgestellt wurde, beruht ihre akanthogene Wirkung auf einer vermehrten Zellneubildung (3, 6, 8, 11, 12, 37, 83, 94). Einige aromatische Kohlenwasserstoffe (Benzpyren, Methylcholantren) führen, nach Erzeugen eines akanthotischen Stadiums, zur Karzinomentwicklung der Haut.

Es ist zu betonen, daß im Interesse der vorliegenden Arbeit nur jene chemischen Stoffe stehen, die eine reversible, benigne Hyperplasie der Epidermis auslösen.

HOEKSTRA, ROSSMILLER und Mitarbeiter wiesen in einer Serie von Experimenten nach, daß es nach wiederholter Applikation von langkettigen, nicht karzinogenen Kohlenwasserstoffen an der Haut von Meerschweinchen zu teilweise dicken Hornauflagerungen im Behandlungsgebiet kommt (50-52, 57, 74, 75).

Die Untersuchungen der Autoren beziehen sich im wesentlichen auf die pathologisch veränderte Hornschicht sowie auf die Aminosäureanalyse der hyperplastischen Epidermis und den Penetrationsmechanismus der verwendeten Wirkstoffe. Aus den untersuchten aliphatischen Reihen von $C_{10} - C_{22}$ übertraf das

Hexadecan ($C_{16}H_{34}$) bei weitem alle Vergleichsubstanzen. Bei unseren Untersuchungen verwandten wir das Hexadecan, um an der Ohrhaut des Meerschweinchens eine reaktive, benigne Epithelzell - Hyperplasie zu erzeugen. Dabei auftretende epidermale Veränderungen sollen auf ihren Pathomechanismus hin untersucht werden.

Die von HOEKSTRA beobachtete exzessive Verdickung der Hornschicht ist möglicherweise als Folge einer hochgradigen, epidermalen Proliferationssteigerung anzusehen. Wir wählten deshalb als Untersuchungsmethode die autoradiographische Technik nach Injektion von Tritium - markiertem Thymidin, ein Verfahren, durch das die Zellneubildungsrate eines Gewebes zahlenmäßig genauer erfaßt werden kann (67). Das Isotop markiert selektiv die in der Verdopplungsphase der Desoxyribonukleinsäure (S - Phase) befindlichen Zellkerne und erlaubt somit eine genaue Bestimmung der S - Phasendauer (17, 72, 81). Weiterhin ist es möglich, die Proliferationszone einer Zellpopulation histologisch zu lokalisieren und die Wanderungskinetik der Zellen zur Hornschicht zu beobachten (1, 2, 61-63).

Diese Arbeit soll einen Beitrag zur Entwicklung, zeitlichen Folge und Korrelation epidermo - dermalen Reizbeantwortung bei der benignen, reaktiven Epithelzell - Hyperplasie liefern, die durch Hexadecan an der Ohrhaut des Meerschweinchens hervorgerufen wird. Es werden hierzu quantitative autoradiographische Analysen durchgeführt. Die Untersuchungen beziehen sich auf die Proliferationsgröße, die Zytokinetik der epidermalen Zellproliferation, Organ-Erneuerungszeit und Dauer des epidermalen Zellzyklus unter hochgradiger Stimulation der Epidermopoese.

II. Material und Methoden

Materialien: Als Versuchstiere dienten männliche Albino - Meerschweinchen vom Stamm Purbright (Lebendgewicht 250-300g), die mit Altromin^R und Wasser ad libitum ernährt wurden. Hexadecan (H D C) (Summenformel $C_{16}H_{34}$) wurde von der Firma Schuchardt München bezogen und teils konzentriert, teils als Hexadecan - Äther - Gemisch (Verhältnis 1:2) verwendet. Mittels Tropfpipette wurden täglich 0,1 ml der Substanz auf die dorsale Seite der Ohren aufgebracht. Eine Verteilung der Flüssigkeit auf die Innenseite konnte nicht verhindert werden. Zur Markierung wurde Thymidin - Methyl - 3H (3H -TdR) (spezifische Aktivität 6,7 Ci/mM) (Buchler, Braunschweig) benutzt. In die vorbehandelte, dorsale Ohrhaut wurden 10 uCi 3H - TdR in physiologischer Kochsalzlösung subepidermal in einer Gesamtmenge von 0,1 ml injiziert. Die Tiere wurden durch Nackenschlag getötet, Gewebe aus dem Behandlungsgebiet entnommen und in 10 % igem Neutralformalin 24 Stunden fixiert. Anschließend erfolgte die Herstellung von Autoradiogrammen, die im Folgenden näher erläutert ist.

A. Autoradiographische Technik

Von den entnommenen Gewebestückchen wurden 4 - 5 u dicke Paraffinschnitte angefertigt. Nach dem Entparaffinieren erfolgte die Beschichtung der Präparate mit Kodak AR 10 Stripping Film bei 22°C und anschließender Föhntrocknung. Die Präparate wurden dann bei minus 20°C unter Lichtabschluß 21 bis 28 Tage exponiert. Der Entwicklung (Kodak D 19 DV) und Fixierung folgte nach gründlicher Wässerung die Färbung mit Hämatoxylin - Eosin, sowie die Einbettung unter Verwendung von Karion F. Bei dem Tracer 3H - TdR handelt es sich um einen selektiven Vorläufer der Desoxyribonucleinsäure (DNS), der dem Warmblüterorganismus kurzfristig (etwa 1 Stunde) zum Einbau in die Zellkerne zur Verfügung steht (4). Die Autoradiogramme werden angefertigt, um den Tracer der optischen Beobachtung zugänglich zu machen. Nach längerem Kontakt des

Kodak AR 10 Stripping Filmes mit Tritium - haltigem Gewebe tritt an Stellen radioaktiven Zerfalls eine streng lokalisierte Schwärzung in Form von Silbergranula ein.

B. Hornschichtabriß

Die schichtweise Entfernung des Stratum corneum (Methode nach WOLF (95)) wurde an den dorsalen Seiten der Meerschweinchenohren vorgenommen. Ein Tesafilm^R - Streifen wurde fest auf die Haut gepreßt und anschließend rasch entfernt. Gewöhnlich wurden 6 - 10 Abrisse vorgenommen, bis die Haut durch Serumaustritt glänzend feucht wurde.

C. Bestimmung der S - Phasendauer

Zur Messung der DNS - Synthesezeit wurde die von SHERMAN, QUASTLER und WIMBER angegebene Methode benutzt, bei der es sich um die Bestimmung des Prozentsatzes ^3H - markierter Mitosen nach kurzzeitig erfolgter ^3H - TdR Markierung handelt (80). Nach 5 tägiger Behandlung mit konzentriertem H D C wurden Gewebeproben nach einmalig erfolgter ^3H - Thymidin Injektion in 2 stündigen Abständen (von 2 bis 24 Stunden) entnommen. Die Proben entstammen jeweils einem Ohr und wurden wie oben beschrieben aufgearbeitet. Zur Bestimmung des Prozentsatzes markierter Mitosen wurden 50 bis 150 mitotische Teilungsfiguren der frühen Meta - bis späten Anaphase in einem Epidermisabschnitt ausgezählt.

D. Zur quantitativen Auswertung

eines angefertigten Präparates wurden etwa 1mm lange, interfollikuläre Epidermisabschnitte mit Hilfe eines Projektionsgerätes (Leitz - Prado) 370 - fach vergrößert ohne Berücksichtigung der Hornschicht auf Papier abgezeichnet. Die seitliche Begrenzung der Zeichnungen erfolgte durch Senkrechte auf die obere Grenzlinie, die der Epidermisoberfläche ent-

spricht. Nach genauer Ermittlung der Oberflächenlänge (OFL) mit einem Rollgerät wurden die Flächeninhalte planimetrisch vermessen (Planimeter Fa. Ott, Kempten). Zur Bestimmung des Papillarkörpers wurden die Basen der Retezapfen miteinander verbunden und die neu-entstandene Fläche zwischen der genannten Linie und der dermo - epidermalen Grenzzone ebenfalls mit dem Planimeter gemessen.

Die Längenbestimmung der dermo - epidermalen Grenzlinie (Basalmembran) erfolgte mit einem Rollgerät.

Zur Messung der epidermalen Zellneubildung wurde die Oberflächenlänge interfollikulärer Epidermisabschnitte bei 370 - facher Vergrößerung auf angegebene Weise ermittelt. Die zugehörigen ^3H - TdR markierten Zellen wurden direkt unter dem Mikroskop ausgezählt. Dabei wurden nur Zellkerne berücksichtigt, die mindestens 4 Silberkörner aufwiesen. Für die Dauer der Behandlung mit H D C wurden von jedem Zeitwert etwa 40 autoradiographische Schnitte angefertigt. Hiervon wurde jeweils etwa 300 - 400 cm projizierte Epidermis abschnittsweise vermessen und auf eine Länge von 120 - 180 cm die ^3H - markierten Zellen ausgezählt. Folglich wurden unter Berücksichtigung der 370 - fachen Vergrößerung zu jeder der untersuchten Behandlungszeiten etwa 0,5 - 1 cm Epidermis analysiert. Es ist darauf hinzuweisen, daß zu annähernd allen Behandlungszeiten die Gewebeproben zweier Ohren getrennt ausgewertet wurden. Die jeweils von mehreren Schnitten erhaltenen Werte der vermessenen Gewebegrößen wurden als Durchschnittswerte errechnet. Weiterhin müssen die Meßwerte der verschiedenen Gewebekomponenten miteinander vergleichbar sein, es wurden deshalb alle ermittelten Durchschnittswerte auf 10 cm Epidermis - Oberflächenlänge in der Projektion umgerechnet.

E. Im einzelnen wurden folgende Versuchsreihen durchgeführt:

- a) Applikation von H D C (konzentriert), täglich einmal bis zum 7. Behandlungstag.

Die Gewebesentnahmen erfolgten am 1. 2. 3. 5. und 7. Tag, jeweils 40 Minuten nach ^3H - TdR Injektion.

- b) Applikation von H D C (verdünnt) bis zum 21. Behandlungstag.

Die Gewebeproben wurden am 1. 3. 5. 7. 10. 14. 18. und 21. Tag, jeweils 40 Minuten nach ^3H - TdR Markierung entnommen. Die Auswertung der Epidermis zweier Äther - behandelte Kontrolltiere (7 und 14 tägige Anwendung der Substanz) ergab unerhebliche Abweichungen von normaler Ohrhaut so, daß Äther als reaktionsloses Verdünnungsmittel betrachtet wurde.

- c) Applikation von H D C (verdünnt) nach Hornschichtabrieb.

Die erste Behandlung mit H D C erfolgte sofort im Anschluß an die Entfernung des Stratum corneum. Jeweils 40 Minuten nach ^3H - TdR Markierung wurden die Gewebeproben nach 6, 12, 24, 48 und 72 Stunden entnommen.

- d) Bestimmung der epidermalen Erneuerungszeit nach 2 tägiger Behandlung mit H D C (verdünnt).

Allen Tieren wurde nach zweimaliger H D C - Applikation gleichzeitig ^3H - TdR injiziert und nach 12, 24, 48 und 72 Stunden Gewebe unter Weiterbehandlung mit H D C entnommen.

- e) Bestimmung der epidermalen Erneuerungszeit nach 7 tägiger Behandlung mit H D C (verdünnt).

Bei prinzipiell gleichartiger Versuchsanordnung wie unter d) beschrieben, wurde erst nach siebenmaliger Anwendung von H D C mit den Gewebesentnahmen begonnen.

- f) Bestimmung der S- Phasendauer proliferierender Epidermiszellen nach 5 tägiger Behandlung mit H D C (konzentriert).

Die Versuchsanordnung wurde in diesem Kapitel bereits bei der Beschreibung der Methoden unter C. beschrieben.

III. Ergebnisse

A. Makroskopisches Bild

Unter der täglich erfolgenden Anwendung von H D C läßt sich bereits nach 3 - 5 Tagen eine deutliche Konsistenzzunahme der Ohrhaut tasten. Nach anfänglicher Rötung setzt am 5. - 7. Behandlungstag eine anhaltende, groß-lamelläre Schuppung ein. Bei längeren Behandlungszeiten (von 15 bis 21 Tagen) sind die Ohren um etwa 2 bis 3 mm verdickt, geschrumpft und teilweise mit blutigen Rhagaden versehen.

B. Histologische Ergebnisse

Bereits nach zweimaliger Applikation von H D C entwickelt sich eine starke epidermale Hyperplasie, die bandförmig unter mäßiggradiger Ausprägung des wellenförmigen Verlaufs der dermo - epidermalen Verbundzone in Erscheinung tritt. Nach 4 - 5 Tagen wird die zunehmende Verlängerung der Reteleisten sichtbar. Die einzelnen epidermalen Retezapfen zeigen jetzt große Regelmäßigkeit in Form und Anordnung und erreichen am 7. Behandlungstag mit langausgezogenen Spitzen die tief in der Cutis liegenden Talgdrüsen.

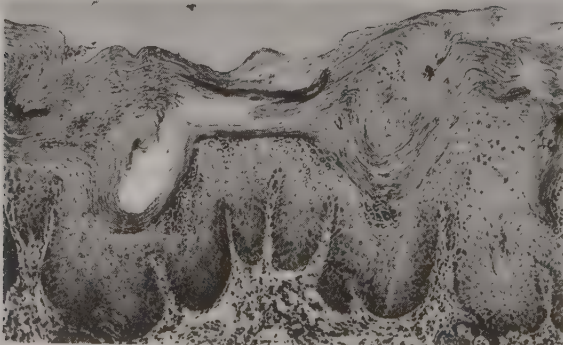


Abb. 2

Meerschweinchenhaut nach siebentägiger Behandlung mit konzentriertem H D C. Die Epidermis ist stark verbreitert, einschließlich des Stratum corneum. Verdickte Hornlamellen bilden über den Follikel - Ostien pfropfartige Massen. Die Basen der Retezapfen erreichen die in der Cutis liegenden Talgdrüsen.



Abb. 3

Detailaufnahme der Abb. 2. Die ^3H - TdR Markierung erfolgte 40 Minuten vor der Gewebsektnahme. Die Retezapfen weisen in den basalen Zellagen eine hohe Zahl DNS - synthetisierender Zellen auf. Die Keratohyalinbildung fehlt teilweise und die Hornlamellen enthalten pyknotische Zellkerne.

Das Stratum granulosum ist anfänglich als geschlossene, meist einschichtige Zellage mit deutlichen Keratohyalingranula sichtbar. Ab 7. Behandlungstag liegt es über den Retezapfen mehrschichtig in dreiecksförmiger Anordnung.

Über den Papillenspitzen ist es entweder als dünne Schicht vorhanden, oder bei Verwendung von konzentriertem H D C völlig fehlend. Im letzten Fall tritt gleichzeitig parakeratotische Hornbildung auf (Fehlen der Keratohyalinschicht bei kernhaltiger Hornschicht). Insgesamt bleibt der Verhornungsmodus jedoch vorwiegend ortho - hyperkeratotisch, besonders über den Ostien der Haarfollikel bilden sich dicke, hyperkeratotische Massen (Abb. 2).

Im Corium zeigt sich vom 3. Behandlungstag an ein entzündliches, vorwiegend perivaskulär angeordnetes Infiltrat. Es besteht im wesentlichen aus Lymphozyten, Histiozyten und Makrophagen und ist zu den genannten Behandlungszeiten (bis 21 Tage) in unterschiedlicher Ausprägung nachweisbar.

C. Autoradiographische Ergebnisse

In den Autoradiogrammen, die 40 Minuten nach ^3H - Thymidin Markierung der behandelten Hautbezirke angefertigt wurden, fand die Aufnahme des Tracers in der Epidermis ausschließlich in den basalen Zellagen statt. Die Zahl der ^3H - markierten Zellen nimmt bei fortschreitender Behandlung unter Verlagerung in die basalen Abschnitte der Retezapfen deutlich zu. Auch in der Cutis weist eine hohe Zahl von Zellkernen zum Teil intensive Silberkornschwärzung auf. Eine morphologische Klassifizierung dieser Zellen wurde nicht unternommen.

Es ist darauf hinzuweisen, daß sich die unter B. und C. beschriebenen Gewebsreaktionen prinzipiell bei beiden verwandten Konzentrationen von H D C zeigten. Bei Verwendung der unverdünnten Substanz stellen sich die Veränderungen von Dermis und Epidermis zu einem früheren Zeitpunkt ein und entwickeln sich rascher. Auffällig ist hierbei ein Überwiegen des parakeratotischen Verhornungsmodus, teilweise unter Ausbildung exzessiv dicker, kernhaltiger Hornlamellen (Abb. 3).

D. Quantitative Ergebnisse

a) Flächen - bzw. Volumenmessungen

Die Ergebnisse der Epidermis - und Papillarkörperflächenmessung von H D C - behandelter, interfollikulärer Meerschweinchenhaut sind in Abb. 4 in Abhängigkeit von der Behandlungsdauer, bezogen auf 10 cm Oberflächenlänge (OFL), dargestellt. Die vorliegenden Flächenberechnungen für Epidermis und Papillarkörper sind als relatives Maß für die entsprechenden Volumina anzusehen (90). Es wird deutlich, daß das Epidermisvolumen nach einem relativ steilen, fast gleichmäßig verlaufenden Anstieg etwa am 14. Behandlungstag Maximalwerte erreicht hat und bei Weiterbehandlung gleichbleibend hoch ist. Im Gegensatz dazu steigt das Papillarkörpervolumen zu allen Behandlungszeiten konstant und in linearer Weise an und befindet sich zu einem Zeitpunkt, an dem die Epidermis ihre Maximalgröße erreicht hat, noch im Stadium des Wachstums.

Ergänzend zur Kinetik der Hyperplasieentwicklung sollen die hierbei gemessenen Absolutgrößen betrachtet werden. Das Organvolumen der Epidermis vergrößert sich um das maximal 4,7 fache, während der Papillarkörper das 28 bzw. 35 fache seiner ursprünglichen Größe erreicht. Hierbei werden die für unbehandelte Meerschweinchenhaut ermittelten Werte zugrunde gelegt: die Epidermisfläche pro 10 cm OFL beträgt nach eigenen Vermessungen 18 cm^2 , die entsprechende dermale Fläche $0,5 \text{ cm}^2$. Die genannten Normalwerte zeigen gute Übereinstimmung mit der Literatur (25). Sie bilden die Ausgangspunkte der Kurven von Abb. 4.

Die genaue Bestimmung der Papillarkörperflächen der nichtbehandelten Meerschweinchenhaut ist mit einer größeren Fehlerbreite verbunden, da die dermo - epidermale Verbundzone annähernd gradlinig verläuft,

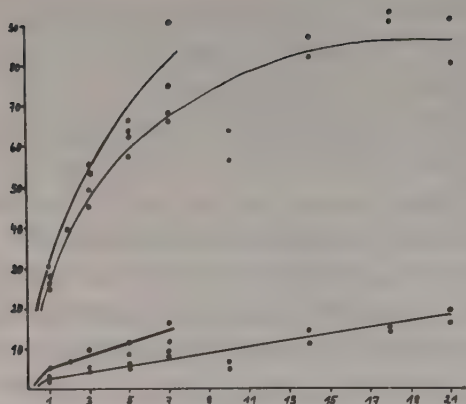


Abb. 4

Graphische Darstellung der Größenzunahme von Epidermis (obere Kurven) und Papillarkörper (untere Kurven) in Abhängigkeit von der Hexadecan - Behandlungsdauer. Die auf der Ordinate angegebenen Werte entsprechen den planimetrisch bestimmten Flächenwerten (cm^2 pro cm Oberflächenlänge in der Projektion). Auf der Abszisse ist die Behandlungsdauer wiedergegeben. Während 7 Tagen würde die reine Substanz angewandt und 21 Tage lang das Hexadecan - Äther - Gemisch.

b) Die Basalmembranlänge

zeigt ebenso wie das Papillarkörperwachstum mit fortschreitender Behandlung eine gleichmäßige Zunahme. Aus Abb. 5 ist ersichtlich, daß sowohl bei Verwendung von verdünntem als auch konzentriertem H D C gleichgroße Werte erreicht werden, jedoch zu wesentlich unterschiedlichen Zeiten.

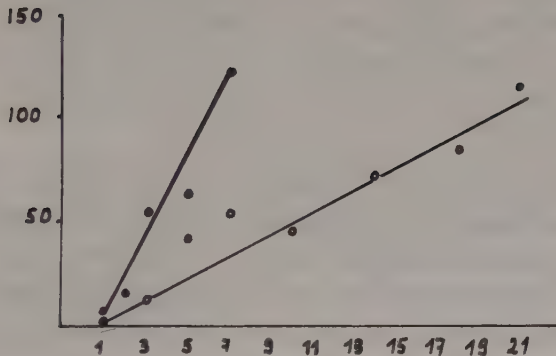


Abb. 5

Graphische Darstellung der Längenzunahme der Basalmembran nach Behandlung mit Hexadecan - Äther (untere Kurve) und reinem Hexadecan (obere Kurve) in Abhängigkeit von der Behandlungsdauer (Abszisse). Die Ordinate gibt den Längenzuwachs in Prozent des Ausgangswertes wieder.

c) Messung der proliferativen Aktivität

Das Auszählungsergebnis der ^3H - markierten Zellen interfollikulärer Epidermisabschnitte ist in Abb. 6 wiedergegeben. Dargestellt ist die Zellneubildung in Abhängigkeit von der H D C - Behandlungszeit, bezogen auf 10 cm Oberflächenlänge (OFL). Während der ersten 7 Behandlungstage steigt die Zahl der DNS - synthetisierenden Zellen hochgradig, beinahe linear an und erreicht etwa nach 12 bis 14 Tagen ein Maximum. Bei fortgesetzter H D C - Applikation ist die proliferative Aktivität,

gemessen an der Zahl ^3H - markierter Zellen gleichbleibend hoch. Die verzeichneten Werte entsprechen einer 15 bzw. 20 fachen Steigerung bezogen auf die Ruhe - Markierungsrate nichtbehandelter Epidermis. (In eigenen Kontrolluntersuchungen fanden wir einen Index von 3 ^3H - markierten Zellen pro 10 cm OFL, der mit der Literatur gut übereinstimmt (25)).

Bei Verwendung beider H D C - Konzentrationen werden Absolutwerte für DNS - synthetisierende Zellen, Epidermisvolumen und Papillarkörper erreicht, die sich nur unwesentlich voneinander unterscheiden. Eine deutliche Konzentrationsabhängigkeit zeigt sich hingegen in der wesentlichen zeitlichen Verkürzung der epidermalen Hyperplasieentwicklung nach Applikation der konzentrierten Substanz.

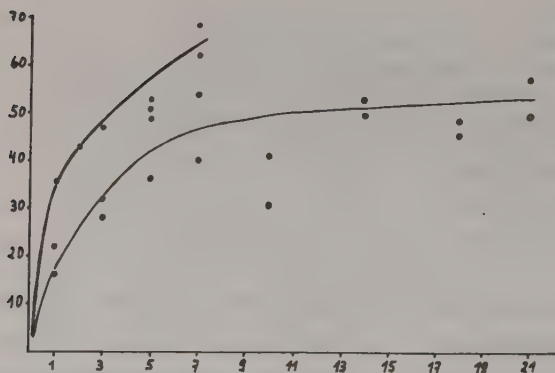


Abb. 6

Zahl der ^3H - TdR markierten Epidermiszellen in Abhängigkeit von der Behandlungsdauer mit reinem (obere Kurve) und verdünntem Hexadecan (untere Kurve). Die Ordinate gibt die ausgezählte Zellzahl pro 10 cm Oberflächenlänge wieder, auf der Abszisse sind die Behandlungstage aufgetragen.

d) Hexadecan - Wirkung nach Hornschichtabriß (HSA)

Die H D C - Behandlung der Haut nach vorangegangener Entfernung der Hornschicht wurde durchgeführt, um den direkten Einfluß der Substanz auf die lebenden Epidermiszellen beobachten zu können.

Das histologische Bild nach HSA nicht anderweitig vorbehandelter Epidermis weist folgende Veränderungen auf: die normalerweise vorhandene orthokeratotische Hornschicht und Keratohyalinbildung fehlen. Nach 12 Stunden besteht ein Ödem der gesamten Epidermis. Die oberen Zellen des Stratum spinosum erscheinen abgeflacht und die Kerne sind stark basophil angefärbt (Parakeratose). Nach 30 - 36 Stunden treten in den oberen Zellagen wieder Keratohyalingranula und damit ein neues Stratum granulosum auf (21, 54, 70, 71).

Das nach Hornschichtabriß mit H D C behandelte Gewebe zeigt ein grundsätzlich gleichartiges Bild (Abb. 7a). Im Corium fällt eine besonders stark entzündliche Reaktion mit perivaskulären, polymorphzelligen Infiltraten auf. Es ist zu betonen, daß bis zum 3. Behandlungstag bei täglich erfolgter H D C - Applikation und 12 bis 24 stündiger Gewebsentnahme kein Anhalt für Zellnekrosen oder eine zytotoxische Wirkung der Substanz gefunden wurde. Nach HSA regelrecht unter Keratohyalinbildung verhorrende Zellen finden sich 48 Stunden nach Behandlungsbeginn.

Eine Aufnahme von ^3H - Thymidin läßt sich auch nach Entfernen der Hornschicht nur in den basalen Zellschichten nachweisen. Die quantitative Auswertung der Zahl ^3H - markierter Zellen zeigt, daß die DNS - Synthesesteigerung im Vergleich zur H D C behandelten, unverletzten Epidermis verzögert erfolgt (Abb. 7). Erst nach 48 bis 72 Stunden entsprechen die Markierungsindices einander. Auffällig ist die zeitliche Übereinstimmung der Neubildung von Keratohyalinschicht und starkem DNS - Syntheseanstieg zwischen 48 und 72 Stunden nach Versuchsbeginn.

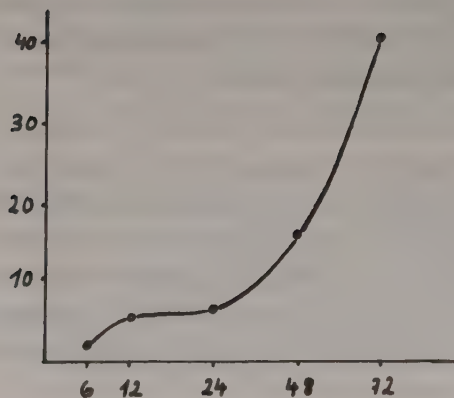


Abb. 7

Legende zu Abb. 7

Zahl der ^3H - TdR markierten Zellen nach Hornschicht-
abriß und täglich erfolgender Behandlung mit verdünntem
Hexadecan. Die Ordinate gibt das Auszählungsergebnis
und die Abszisse die Behandlungszeit in Stunden wieder.
Bezugsgröße siehe Abb. 6

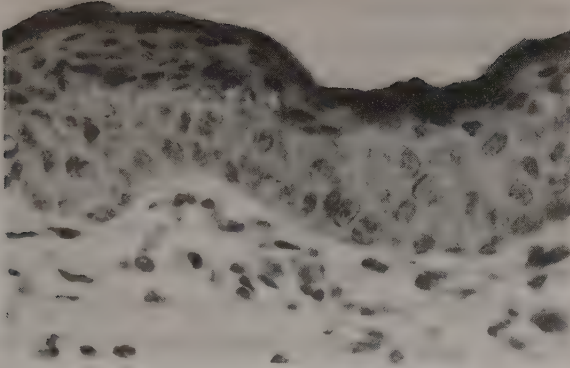


Abb. 7a

Meerschweinchenepidermis 12 Stunden nach Entfernen der Hornschicht. Die H D C - Behandlung erfolgte anschließend. 40 Minuten vor der Gewebsentnahme wurde ^3H - TdR appliziert. Lediglich in der Basalzellschicht findet sich vereinzelt Markierung. Auffällig ist die dicke parakeratotische Hornschicht und die Hypertrophie der vitalen Epidermiszellen.

e) Messung der epidermalen Erneuerungszeit

Die Mauserungszeit der Epidermis wird durch die Geschwindigkeit des ständig vom Basalzellager zur Hautoberfläche fließenden Zellstromes bestimmt. In den zu fortlaufenden Zeiten nach einmalig erfolgter ^3H - Thymidin Markierung entnommenen Gewebeproben lassen sich anhand der Autoradiogramme ^3H - markierte Tochterzellen auf ihrer Wanderung von der Basalzellschicht in Richtung Verhornungszone verfolgen. Die histologisch - autoradiographisch gemessene Erneuerungszeit ergibt sich aus dem Zeitintervall zwischen Markierung und Sichtbarwerden aller aus der ersten Zellteilung nach ^3H - TdR Applikation hervorgegangener Tochterzellen (kenntlich an der hohen Silberkornzahl pro Zellkern) im Stratum granulosum.

Im einzelnen wurde in den Autoradiogrammen die Lokalisation der Tochterzellen mit hoher Silberkorndichte innerhalb der Epidermisabschnitte bestimmt. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 1 wiedergegeben. Innerhalb des Stratum corneum konnte keine Markierung nachgewiesen werden.

Tabelle 1

Zeit nach ^3H - TdR Injektion in Stunden		Lokalisation
	12 Std.	Str. basale u. suprabasale Schicht
7 tägige	24 "	unteres Str. spinosum
H D C Behand-	48 "	oberes Str. spinosum
lung	72 "	Str. granulosum
	96 "	obere Grenze des Str. granulosum
	12 Std.	unteres Str. spinosum
2 tägige	24 "	mittleres Str. spinosum
H D C Behand-	48 "	obere Grenze des Str. spinosum
lung	72 "	Str. granulosum und teilweise nicht mehr nachweisbar

Die Mauserungszeit der Epidermis beträgt nach zweimaliger H D C - Applikation unter weitergeführter Behandlung etwa 60 Stunden, und nach siebenmaliger Anwendung vollzieht sich die Organerneuerung in 72 Stunden (Abb. 8 und Abb. 9).

Im Gegensatz hierzu wurde bei einigen Tieren die H D C - Behandlung nach 7 Tagen eingestellt und anschließend die Erneuerungszeit auf oben angegebene Weise gemessen. Nach 72 Stunden befindet sich das Gros der ^3H - markierten Zellen hoher Silberkorndichte erst in den mittleren Schichten des Stratum spinosum und darunter (Abb. 10). Somit tritt bei der Unterbrechung der Epidermopoese - Stimulation eine Verzögerung im Ablauf der Organerneuerung ein. Gleichzeitig zeigen sich eine durchgehende Verdickung des Stratum granulosum auf etwa 4 Lagen keratohyalinbildender Zellen und auffällige Veränderungen an der Hornschicht. Unter Abstossung propfartiger

Hornmassen und vermehrter Keratinbildung scheint eine Normalisierung einzutreten (Abb. 11).

Die zytokinetischen Befunde der epidermalen Zellmauserung sind aus Abb. 12 ersichtlich. Zu Beginn der sich entwickelnden Papillomatose bilden die aufwärtswandernden markierten Zellen bandartig über Papillenspitzen und tieferreichenden Retezapfen gleichmäßig aufsteigende Zellagen. Die hohe Silberkorn-dichte der differenzierenden Zellen schließt weitere Teilungen aus. Zur Basis der auswachsenden Retezapfen hin nimmt die Korndichte der einzelnen Zellen im selben Maße ab wie die Proliferationsrate zunimmt. Im basalen Zellager, dem Ort der höchsten Teilungsfrequenz, ist die Markierungsdichte pro Kern am geringsten. Bei bereits stärker ausgeprägter Papillomatose scheint die Bewegung der ^3H - markierten Zellen vorwiegend in Richtung auf das Stratum granulosum oberhalb der Retezapfen zu erfolgen, wo sie sich unter Aufwärtswanderung anhäufen (Abb. 13).

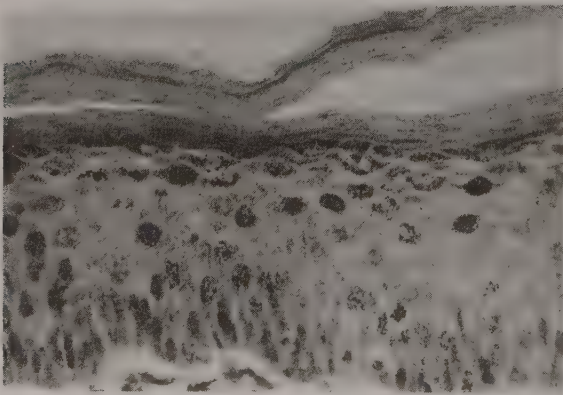


Abb. 8

Meerschweinchenhaut nach viertägiger Behandlung mit verdünntem H D C. Die ^3H - TdR Markierung erfolgte 48 Std. vor der Gewebsentnahme. Innerhalb dieser Zeit sind neugebildete Tochterzellen von der Basalzellschicht in das Stratum granulosum hochgewandert, ohne daß es zu einer sichtbaren Störung der Verhornung gekommen ist.

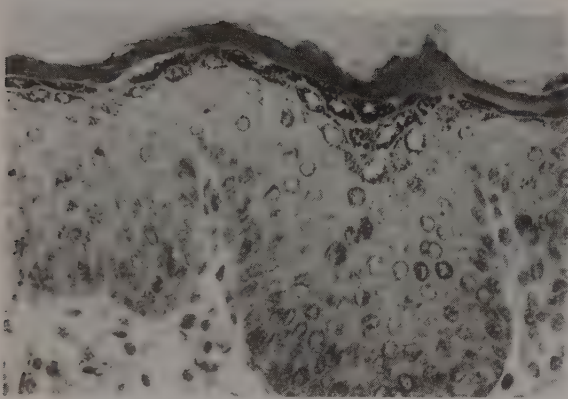


Abb. 9

Legende zur Abb. 9:

Meerschweinchenhaut nach elftägiger Hexadecanbehandlung. Die Entnahme des Gewebes erfolgte 96 Stunden nach ^3H - TdR Markierung. Neugebildete Tochterzellen finden sich fast ausschließlich im Stratum granulosum und mittleren Schichten des Stratum spinosum. Wie die geringe Silberkorndichte zeigt, handelt es sich hierbei bereits um Zellen nach erfolgter Teilung. Basalzellschicht und untere Schichten des Stratum spinosum sind durch hochgradige Verdünnung des ^3H - markierten Kernmaterials annähernd ohne Silberkornschwärzung.

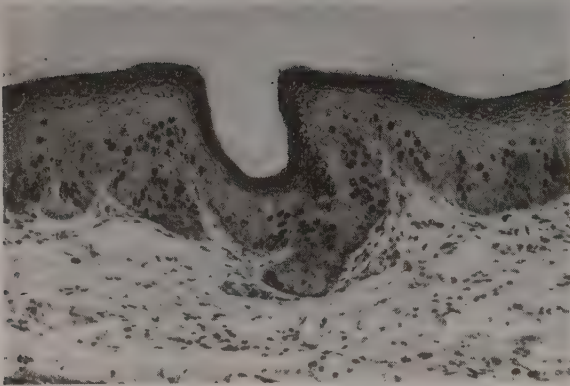


Abb. 10

Meerschweinchenhaut nach siebenmaliger Hexadecan - Behandlung und anschließender Applikation von ^3H - TdR. Das Ohr wurde nicht weiterbehandelt und nach 72 Stunden erfolgte die Gewebeentnahme. Neugebildete Tochterzellen füllen die basalen und mittleren Abschnitte der Epidermis aus. Keine dieser Zellen hat das Stratum granulosum erreicht. Die tiefe Einbuchtung der Oberfläche ist durch die Abstossung propfartiger Hornmassen eines Haarfollikels bedingt.

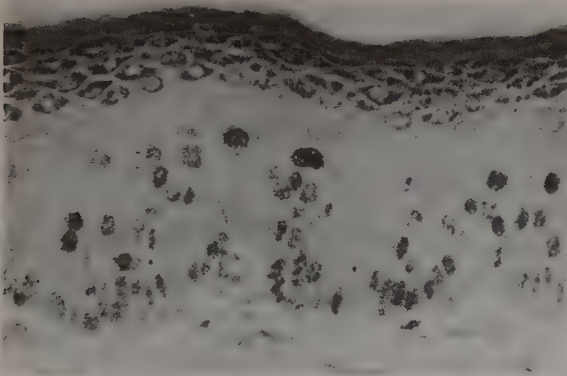


Abb. 11

Detailaufnahme der vorherigen Abbildung (Abb. 10). Auffällig ist eine starke Rückbildung des Rete-reliefs und ein Anwachsen der Keratohyalinschicht auf etwa 5 Zellagen.

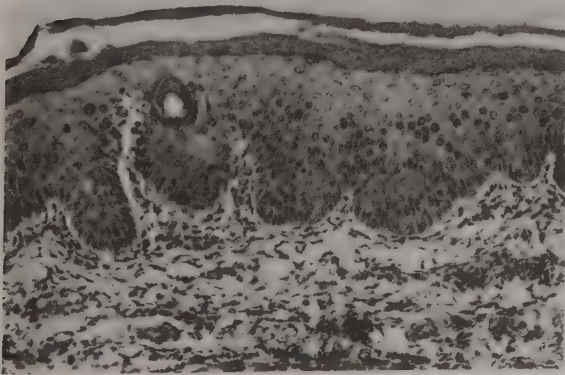


Abb. 12

Meerschweinchenhaut nach dreitägiger Hexadecan - Behandlung (verdünnt). Die ^3H - TdR Markierung erfolgte 24 Stunden vor der Gewebesenntnahme. Zu diesem Zeitpunkt finden sich neugebildete Tochterzellen hoher Silberkorndichte in gradliniger Anordnung in der Mitte der Epidermis. Zur Basis der sich ausprägenden Retezapfen hin nimmt die Silberkornzahl der einzelnen Zellen ab.

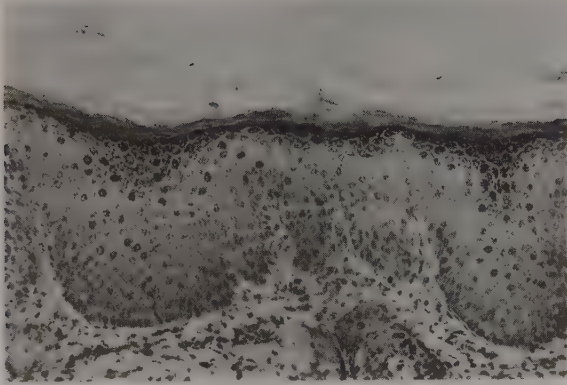


Abb. 13

Meerschweinchenhaut nach zehntägiger Behandlung mit verdünntem Hexadecan. Die Gewebseentnahme erfolgte 72 Stunden nach ^3H - TdR Applikation. Zu diesem Zeitpunkt befindet sich das Gros ^3H - markierter Zellen im Stratum granulosum oder unmittelbar darunter. Die Bewegung dieser Zellen erfolgt eindeutig in Richtung auf das dreiecksförmig über den Retezapfen angeordnete Stratum granulosum.

f) Messung der S - Phasendauer

Da die H D C - behandelte Epidermis eine sehr hohe Zahl teilungsaktiver Zellen aufweist, liegt es nahe, die Dauer des epidermalen Zellzyklus und seiner einzelnen Phasen zu bestimmen. Diese bestehen aus der Mitose (M), der postmitotischen Ruhephase (G_1), der DNS - Synthesephase (S) und der prämitotischen Ruhephase (G_2), (Einteilung von HOWARD und PELC (53)).

Es wurde die in Kapitel II angegebene Methodik der Auszählung markierter Mitosen benutzt. Durch ^3H - Thymidin Injektion werden alle Zellen markiert, die sich unterschiedlich weit fortgeschritten in der S - Phase befinden. Mit zunehmender Zeit wandern immer mehr dieser markierten Zellen durch die G_2 - Phase und anschließend durch die Mitosestadien. Die ersten markierten Mitosen treten auf, wenn die Zeit zwischen ^3H - TdR Applikation und Gewebeentnahme größer als G_2 wird. Überschreitet der genannte Zeitraum die Dauer von $G_2 + M$, so sind sämtliche Mitosen markiert. Dieser Zustand bleibt bestehen, solange sich noch markierte Zellen in der G_2 - Phase befinden. Unmarkierte Mitosen treten wieder auf, sobald die Versuchsdauer größer als $G_2 + M + S$ wird.

In Abb. 14 ist der Prozentsatz ^3H - markierter Mitosen (bezogen auf die Gesamtzahl aller ausgezählten mitotischen Figuren) nach Stimulation der Teilungsaktivität durch H D C graphisch dargestellt. Der relativ steile Anstieg und Abstieg der Kurve weist auf eine starke Gleichschaltung der proliferierenden Zellen beim Durchlaufen der einzelnen Phasen des Zellzyklus. Der geringere Steilheitsgrad des abfallenden Kurventeils ist vorwiegend durch die biologischen Schwankungen von G_2 , M und S bedingt. Die Verbindungslinie der 50% Werte markierter Mitosen auf an - und absteigendem Kurvenschenkel gibt die mittlere Dauer der S - Phase an. Sie beträgt 7,2 Stunden. Die entsprechend gemessene G_2 - Phasendauer beträgt 3 Stunden und M etwa 1 Stunde.

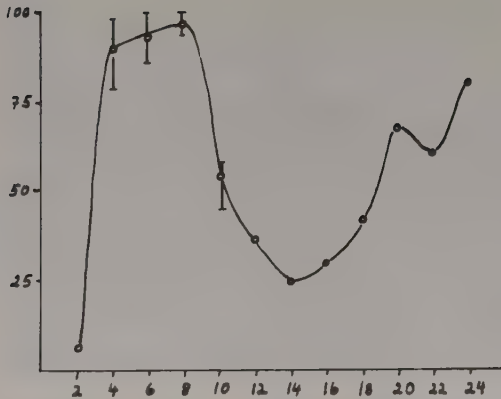


Abb. 14

Auszählungsergebnis markierter Mitosen, angegeben in Prozent der Gesamtzahl aller ermittelten Teilungsfiguren (Ordinate). Auf der Abzisse sind die Zeiten der Gewebsentnahmen in Stunden angegeben.

Das Minimum an markierten Mitosen wird nach 14 Stunden erreicht. Der zweite Kurvenanstieg verläuft unregelmässiger und flacher als der erste und erreicht nach 24 Stunden lediglich 80% markierte Teilungsfiguren. Zu den ^3H -markierten Zellen, die bereits das zweitemal eine Mitose durchlaufen, addieren sich fortwährend neugebildete, unmarkierte Kerne, so daß der Prozentsatz ^3H -markierter Mitosen im zweiten Kurventeil reduziert bleibt.

Der Zeitraum zwischen zwei entsprechenden Punkten der ersten und zweiten Welle markierter Mitosen liefert den direkten Wert für die Generationszeit der an der Proliferation teilnehmenden Zellen. Im vorliegenden Fall beträgt er 16 Stunden. Durch Substraktion der übrigen Werte ($G_2 + M + S = 11,2$ Stunden) von der Gesamtzyklusdauer (16 Stunden) ergibt sich für die G_1 -Phase eine Dauer von 4,8 Stunden.

IV. Besprechung der Ergebnisse

A. Experimentelle Hyperplasie

Die experimentelle Erzeugung einer Akanthose durch wiederholte Applikation von Kohlenwasserstoffe auf die Haut ist seit den Untersuchungen von HODORA im Jahre 1900 bekannt (der Autor verwandte Chrysarobin, ein Kohlenwasserstoff mit kondensiertem Ringsystem). In der Folgezeit erwiesen sich aromatische und aliphatische Kohlenwasserstoffe und ihre Derivate als das Hauptkontingent experimentell gefundener akanthogener Faktoren. Bekannt als besonders starke Hyperplasie - Induktoren sind: Paraffine, insbesondere des Hexadecan (11, 57, 74, 75), Fraktionsprodukte des Erdöls wie Vaseline (3, 8, 10, 37, 77, 78) und Gemische von Triglyceriden wie Olivenöl (12, 77, 78), Rizinusöl (12, 77) und Schweinefett (78). Weiterhin kann den Keimdrüsenhormonen Östradiol, Östradiolderivaten und Testosteron eine akanthogene Wirkung zugeordnet werden (9, 10, 7, 28, 29, 41, 79, 86, 87), sowie einigen Vitaminen, wobei Vitamin A und Vitamin A - Säure die stärkste Wirkung aufweisen (29, 85).

GAUDIN wies erstmalig für die Akanthose nach lokaler Anwendung von Kohlenwasserstoffen (Cignolin und Vaseline) eine Steigerung der Mitoseaktivität nach (37). Dieser Befund wurde in der Regel auch für die übrigen genannten experimentellen Hyperplasien erhoben. Sie können somit dem eingangs erwähnten Formenkreis der " Proliferationsakanthose " zugeordnet werden, dessen Kennzeichen die Stimulation der Epidermopoese ist.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen erlauben es, die Entwicklung einer experimentellen, benignen Hyperplasie durch genaue, quantitative Messungen in Abhängigkeit von Einwirkungsdauer und Dosis der akanthogenen Substanz Schritt für Schritt zu verfolgen.

Bei dieser Hyperplasieentwicklung steht die hochgradige Steigerung der DNS - Synthese und damit der Zellneubildung (bis auf das 15 bzw. 20 fache des Ausgangswertes) im Vordergrund. Alle sich während der Behandlung einstellenden Größenveränderungen können als Folge dieser Epidermopoesesteigerung betrachtet werden. Wie aus der graphischen Darstellung der Zahl ^3H - markierter Zellen in Korrelation zur Behandlungsdauer ersichtlich ist, weist diese epidermale Antwort auf den Stimulationsreiz durch H D C eine Zeitabhängigkeit auf (siehe Abb. 6). Die anfänglich hochgradige Zunahme der DNS - Syntheseaktivität erfährt bei länger fortgesetzter Behandlung (10. bis 21. Tag) eine Erschöpfung, kenntlich am Gleichbleiben der Zellneubildungsrate. Dies ist nur für die schwächere H D C - Konzentration nachgewiesen, da nur in diesem Fall die Behandlung über einen ausreichend langen Zeitraum fortgesetzt wurde. Es ist jedoch anzunehmen, daß auch bei weitergeführter Applikation der unverdünnten Substanz die Fähigkeit zur Epidermopoesesteigerung begrenzt ist.

Weiterhin konnte für das Verhalten der Syntheseaktivität eine Dosisabhängigkeit nachgewiesen werden. In Abb. 6 wird deutlich, daß das konzentrierte H D C eine raschere Zunahme der ^3H - markierten Zellen bewirkt. Bereits nach 5 - 7 tägiger Anwendung werden gleichgroße Werte erreicht wie im Zeitraum zwischen 14 und 21 Tagen bei Anwendung der verdünnten Substanz.

Es ergibt sich ein bemerkenswerter Befund bei der Korrelation einander entsprechender Werte von Epidermisvolumen und DNS - synthetisierenden Zellen in Abb. 15: einmal ist der lineare Kurvenanstieg ein Beweis für die Parallelität im Ablauf von Zellneubildung und Hyperplasie. Zudem wird ein weiterer, dosisbedingter Unterschied deutlich: ausgehend von gleichgroßen Epidermisvolumina liegen die Werte für die ^3H - markierten Zellen bei Verwendung von konzentriertem H D C höher. Epidermisabschnitte gleichgroßer Volumina enthalten also bei Applikation der reinen Substanz einen wesentlich höheren Anteil proliferierender Zellen. Folglich muß hier der

Anteil der differenzierenden Zellfraktion am Gesamtvolumen der Epidermis entsprechend geringer sein. Ungeklärt bleibt, ob diese Beobachtung für die nach Anwendung des reinen H D C auftretende Parakeratose mitverantwortlich zu machen ist. Es ist denkbar, daß zur Wahrung der orthokeratotischen Hornbildung ein bestimmtes Verhältnis von proliferierender und differenzierender Zellfraktion notwendig ist, das im Fall der Behandlung mit konzentriertem H D C nicht mehr gewährleistet ist.

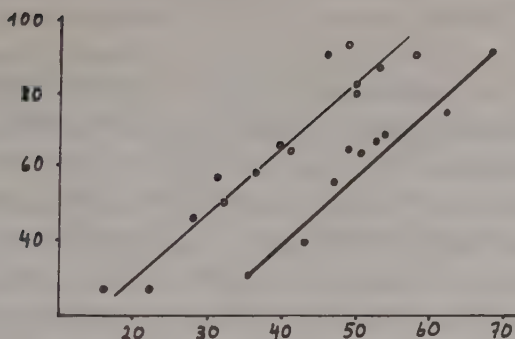


Abb. 15

Verhältnis von Epidermisflächen (Ordinate) zur Zahl H - markierter Zellen (Abszisse) während der Behandlung mit Hexadecan. Die einzelnen Werte beziehen sich auf eine Oberflächenlänge von 10 cm in der Projektion. Sie erstrecken sich auf eine Behandlungsdauer von 1 - 7 Tagen bei Anwendung von konzentriertem Hexadecan (untere Kurve) und von 1 - 21 Tagen bei Verwendung der verdünnten Substanz (obere Kurve).

Die Hyperplasieentwicklung der Epidermis muß eine ähnliche zeit- und dosisbezogene Korrelation aufweisen (vorausgesetzt, daß es sich bei der Volumenzunahme um die pathogenetische Folge der gesteigerten Zellneubildungsrate handelt), wie dies zuvor für die Zahl der DNS-synthetisierenden Zellen beschrieben wurde. Die Bestätigung erfolgt durch die Ergebnisse der Epidermisflächenmessung (obere Kurven der Abb. 4): nach anfänglich hochgradiger Zunahme des Volumens ist ab 12. Behandlungstag keine Steigerung mehr nachweisbar. Es folgt daraus, daß bei fortgeschrittener Behandlung (12. bis 21. Tag) ein Gleichgewicht zwischen Zellneubildung und Zellverlust besteht (steady - state).

B. Gestaltwandel

Im Verlauf der H D C - Behandlung beobachten wir in den histologischen Präparaten an der hyperplastischen Epidermis eine charakteristische Neuordnung der dermo - epidermalen Verbundzone wie sie sich sowohl generell nach experimenteller Stimulation der Epidermopoese als auch im Rahmen verschiedener Hauterkrankungen (z.B. Psoriasis vulgaris, Ekzem, Neurodermitis) vollzieht. Kennzeichnend für diese mit dem Begriff " Papillomatose " belegten Veränderungen ist die Ausbildung von mehr oder weniger tief in die Dermis reichenden Retezapfen und dazwischenliegenden, langausgezogenen, dermalen Papillen.

Die Ergebnisse der Flächen - und Längenmessung geben genaue Aufschlüsse über die Zeit - und Dosisabhängigkeit der Veränderungen im dermo - epidermalen Grenzbereich. Maßgeblich ist das Verhalten von Basalmembranlänge und Papillarkörperfläche, das in Abb. 5 und Abb. 4 in Korrelation zur Behandlungszeit wiedergeben ist. Die histologisch stärkere Ausprägung des wellenförmigen Verlaufs der Verbundzone wird durch die lineare Vergrößerung der Basalmembranlänge bestätigt. Die

Papillarkörperfläche nimmt ebenfalls zu allen Behandlungszeiten linear zu. Da sowohl Inhalt als auch Umfang (dieser wird zum größten Teil von der Basalmembran gebildet) sich gleichermaßen vergrößern, können die Werte von Papillarkörperfläche und Basalmembranlänge als relative Maße für die sich ausprägende Papillomatose gewertet werden. Dabei fällt wiederum eine Dosisabhängigkeit auf: die Papillen - und Zapfenbildung vollzieht sich bei Verwendung von konzentriertem H D C zeitlich rascher (ähnlich wie bereits früher für die Hyperplasieentwicklung beschrieben). Beweisend ist der steilere Verlauf der entsprechenden Kurven der Basalmembranlänge und Papillarkörperflächen,

Die quantitativen Ergebnisse erlauben weiterhin eine genaue Bestimmung der Anteile von epidermalem und dermalem Gewebe an der Papillomatoseentwicklung. Zur Veranschaulichung des wechselseitigen Verhaltens im Größenwachstum von Epidermis und Papillarkörper wurden die korrelierenden Werte für beide Gewebskomponenten ohne direkten Bezug zur Behandlungsdauer graphisch dargestellt. Wie Abb. 16 zeigt, besteht für den Zeitraum der hochgradigen Volumenzunahme bei beiden verwandten Konzentrationen eine lineare Abhängigkeit. Bei steady - state Bedingungen der epidermalen Größen hingegen nehmen Papillarkörperflächen und Basalmembranlänge weiterhin zu (Abb. 4 und Abb. 5). Folglich laufen die Größenzunahmen von epidermalem und dermalem Gewebeanteil zu Beginn der Hyperplasieentwicklung streng parallel, ein Befund, der ebenfalls bei der experimentellen Hyperplasie durch Vitamin A - Säure und bei hyperkeratotischen Dermatosen erhoben wurde (20, 34). Hat das Epidermismaximum erreicht, so schreiten die Veränderungen der dermo - epidermalen Verbundzone unter überwiegender Beteiligung der dermalen Gewebskomponente fort. In den histologischen Präparaten finden sich Hinweise, daß dies durch Zunahme der Zahl dermalen Papillen geschieht. Über die genaue Funktion, die der Dermis bei einer derartigen Neuorganisation zukommt, kann anhand der Untersuchungen keine Aussage gemacht werden, weil der Einfluß von H D C auf die Bindegewebszellen weitgehend unbekannt bleibt.

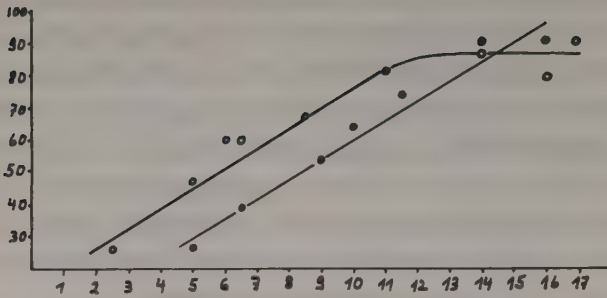


Abb. 16

Verhältnis von Epidermisflächen (Ordinate) zu Papillarkörperflächen (Abszisse) während der Behandlung mit Hexadecan. Die einzelnen Werte sind in cm^2 angegeben und beziehen sich auf eine Oberflächenlänge von 10 cm in der Projektion. Sie erstrecken sich auf eine Behandlungsdauer von 1 - 7 Tagen bei Anwendung von konzentriertem Hexadecan (untere Kurve) und von 1 - 21 Tagen bei Verwendung der verdünnten Substanz (obere Kurve)

Im Verlauf der Papillomatose - Entwicklung vollziehen sich bei fortschreitender H D C - Behandlung, parallel zu den morphologischen Umwandlungen, bestimmte Veränderungen an den epidermalen Funktionszonen. Ausgehend von einer gleichmäßig über die gesamte Basalzellschicht verteilten ^3H - Thymidin Markierung tritt mit zunehmendem Strukturwandel eine Aufgliederung des germinativen Lagers ein: wie in den histologischen Präparaten am zytokinetischen Verhalten sichtbar wird, verlagert sich der proliferative Anteil der Epidermis unter hochgradiger Zunahme der Zahl teilungsaktiver Zellen fast ausschließlich in die Retezapfen (Vergrößerung des "proliferating pool" mit

" compartmentalisation " (89)). Die proliferativen Zentren konzentrieren sich hier an den Basen, wo sie einen Zellpool von etwa 3 - 4 ^3H - markierten Zellagen bilden. In Richtung auf die Papillenspitzen hin nimmt die Silberkornschwärzung ab und beschränkt sich fast ausschließlich auf die Basalzellschicht.

Anhand der quantitativen Ergebnisse läßt sich die Korrelierung von proliferierendem Zellpool und Retezapfen - bzw. Papillenbildung bestätigen. Ein direktes Maß für den Anteil der proliferierenden Zellpopulation ist der Index ^3H - markierter Zellen. Eine Darstellung des Verhältnisses der Zahl ^3H - markierter Zellen zur Größe der Papillarkörperflächen liegt nicht vor, ergibt sich jedoch indirekt beim Vergleich von Abb. 15 mit Abb. 16. Da sowohl ^3H - Markierungsindex als auch die Papillarkörperflächen gleichermaßen linear abhängig vom Epidermisvolumen sind, müssen sie auch untereinander ein konstantes Verhältnis aufweisen.

Noch deutlicher wird die Koppelung der Zunahme des " proliferierenden pools " mit der Papillomatoseentwicklung (als Ausdruck der stattfindenden " compartmentalisation "), wenn das Verhalten beider Komponenten bei Anwendung unterschiedlicher H D C - Konzentrationen betrachtet wird. Wie bereits besprochen, drückt sich die Dosisabhängigkeit bei Epidermisabschnitten gleicher Volumina in der Größe der proliferierenden Zellfraktion aus. Eine entsprechende Abhängigkeit von der Konzentration weist der Papillarkörper auf. Da in der graphischen Darstellung (Abb. 15 und Abb. 16) sowohl die Kurve ^3H - markierter Zellen als auch der Papillarkörperflächen bei Verwendung von konzentriertem H D C eine entsprechende Verschiebung zu höheren Werten erfährt, verläuft die Vergrößerung des " proliferating pool " gleichzeitig mit einer Zunahme der " compartmentalisation ".

Die autoradiographische Verfolgung neugebildeter Tochterzellen unter fortgesetzter Epidermopoesestimulation zeigt, daß sowohl über den Basen und an den Seiten der Retezapfen als auch über den Papillenspitzen der Zellstrom senkrecht zur Organoberfläche gerichtet ist. Die von basal aufwärts steigenden Zellen durchziehen die Mitte der Retezapfen (Abb. 17). Im oberen Stratum spinosum geschieht die Zellwanderung über Retezapfen und Papillenspitzen synchron in bandförmiger Anordnung (Abb. 12). Die gleiche Verteilung wurde auch bei der Hyperplasie durch Vitamin A - Säure gefunden (25). Offensichtlich steigen von den tiefliegenden Retezapfen wesentlich mehr Zellen zur Organoberfläche als über den Papillenspitzen, ein Beweis für die Aufteilung der proliferativen Zentren im Sinne der " compartment " - Bildung. Der starke Proliferationsdruck an den Basen der Retezapfen zeigt sich direkt in der großen Zahl länglicher, basophiler Zellen, deren hohe Teilungsgeschwindigkeit an ihrer geringen Silberkorndichte erkennbar ist. Die Frage bleibt ungeklärt, ob ihr Eindringen in die Cutis entsprechend dem Wachstumsdruck, oder das Vordringen dermalen Papillen in die Epidermis die Ausprägung dermalen Papillen bewirkt. Eine in den histologischen Präparaten gemachte Beobachtung unterstützt den erstgenannten Mechanismus: bei vollständig ausgeprägtem Strukturwandel erreichen die Retezapfen mit ihren Basen das Niveau der tief in der Cutis liegenden Talgdrüsen.

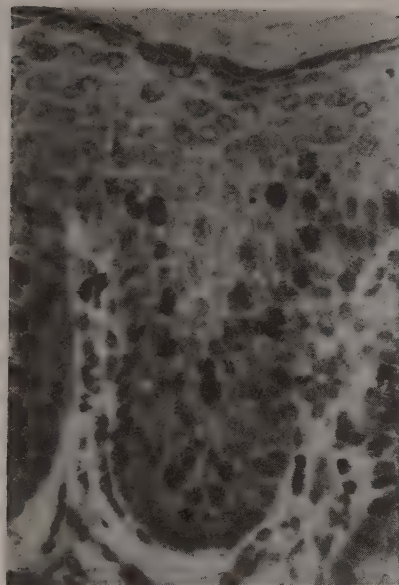


Abb. 17

Legende zu Abb. 17

Meerschweinchenepidermis nach achttägiger Behandlung mit verdünntem Hexadecan. Die Gewebsentnahme erfolgte 24 Stunden nach der Markierung mit ^3H - Thymidin. Der von basal aufsteigende Zellstrom durchzieht die Mitte des Retezapfens.

Neben der Zelldynamik geben die durchgeführten Zeitmessungen bei der Wanderungskinetik postmitotischer Epidermiszellen wesentliche Aufschlüsse. Der Zeitraum, in dem eine Zelle von den basalen Zellagen bis an die Stratum granulosum - Stratum corneum Grenze wandert, verkürzt sich von normalerweise 12 - 14 Tagen (24) auf 60 - 70 Stunden. Unter Ruhebedingungen sind aufsteigende Zellen in unregelmäßiger Anordnung über die verschiedenen Epidermischichten verteilt. Da sie die Verhornungszone mit teilweise erheblicher Zeitdifferenz erreichen, ist streng zu trennen zwischen Durchwanderungszeit einzelner ^3H - markierter Tochterzellen (Transit - time) und der Erneuerungszeit der Gesamt - Zellpopulation (Turnover - time) (33) . Nach H D C - Behandlung werden diese Unterschiede unerheblich, denn das Gros ^3H - markierter Zellen hoher Silberkorn-dichte tritt etwa gleichzeitig in die Keratohyalinschicht ein. Die Durchwanderungszeit der Einzelzelle und die Erneuerungszeit des gesamten Rete Malpighi entsprechen einander weitgehend.

Da auch nach Stimulation durch Vitamin A - Säure und Entfernung der Hornschicht am Meerschweinchenohr eine Reduktion der Mauserungszeit auf ca. 3 Tage gefunden wurde (21, 24), dürfte dies einem nicht unterschreitbaren Minimalwert entsprechen. Es ist ein auffälliger Befund, daß die Mauserungsrate für die beiden untersuchten Behandlungszeiten (2 tägige und 7 tägige Applikation) nahezu identisch ist, obwohl erhebliche Unterschiede in der Epidermisdicke bestehen: nach 7 Behandlungstagen ist das Epidermisvolumen bereits fast um das 4 fache gestiegen, während nach 2 Behandlungstagen erst eine mäßiggradige Zunahme zu verzeichnen ist. Die Differenzierungszeit, die in der proliferativen Zone entstandenen Tochterzellen zur Verhornung benötigen, ist also von der jeweiligen Dicke der Epidermis unabhängig. Daraus lassen sich zweierlei Schlüsse ziehen:

- a) die Reifungszeit postmitotischer Epidermiszellen kann nicht über 60 - 72 Stunden hinaus verkürzt werden, denn der an der Organoberfläche stattfindende Zellverlust durch Ausreifung reicht bei weitem nicht aus, die Zellneubildung auszugleichen. Bei anhaltender Epidermopoese - Stimulation kommt es dabei zur Entwicklung einer Hyperplasie. Neben den Teilungsvorgängen im proliferativen Zellager spielt somit auch die minimale Reifungszeit eine entscheidende Rolle für das Größenwachstum der Epidermis.
- b) ein wesentlich höherer Proliferationsdruck ist notwendig, um die Erneuerung einer 4 fach verdickten Epidermis im gleichen Zeitraum zu vollziehen wie bei mäßiggradiger Verdickung des Organs. Das germinative Zellager muß die entsprechend größere Zellpopulation ersetzen. Hinzu addiert sich noch ein Wachstumsfaktor, da im Zuge der Hyperplasieentwicklung das Organvolumen zusätzlich ständig anwächst. Das Auszählungsergebnis ^3H - markierter Zellen zu den genannten Behandlungszeiten (2. und 7. Tag) verdeutlicht die unterschiedliche Größe des proliferativen Zellpools (Abb. 6).

Es ist darauf hinzuweisen, daß die Fähigkeit des epidermalen Gewebes zur orthokeratotischen Hornbildung trotz exzessiv beschleunigter Organerneuerung nach Applikation von H D C erhalten bleibt. Eine ähnlich hohe Verkürzung der Mauserungszeit lebender Epidermis von 14 Tagen auf 2 bis 4 Tage findet sich bei der Psoriasis vulgaris des Menschen (73, 90, 92). Dabei tritt jedoch parakeratotische Hornbildung auf, was von einer Anzahl Autoren auf eine hochgradig gesteigerte Epidermopoese mit Unterschreitung der minimalen Reifungszeit zurückgeführt wird (60, 65, 90, 92). Die Beobachtungen bei der vorliegenden Hyperplasie weisen darauf hin, daß wahrscheinlich andere Gründe für eine pathologische Hornbildung bestehen.

Unter Berücksichtigung der Ergebnisse der Wanderungskinetik sollen die Faktoren, die das Eindringen epidermaler Retezapfen in die Cutis ursächlich bedingen, zusammengefaßt werden: an erster Stelle steht eine hohe Zellneubildungsrate in der Proliferationszone bei gleichzeitiger maximaler Verkürzung der Reifungszeit. Die Folge ist eine Zunahme der Gesamtzellpopulation.. Ein Ausweichen neugebildeter Zellen in die plastische Cutis der Meerschweinchenhaut wird wahrscheinlich durch die hohe Festigkeit der Hornschicht begünstigt.

(Prüfungen der Reißfestigkeit führten KLIGMAN und CHRISTOPHERS an isolierten Hornschichtmembranen durch; 58, 59).

Bemerkenswert ist die nach Absetzen der H D C - Behandlung akut einsetzende Verlangsamung der aufwärtswandernden Zellen. Obwohl keine Auszählungsergebnisse von diesen Autoradiogrammen vorliegen, ist die Zahl ^3H - markierter Zellen in diesen Präparaten bereits 48 Stunden nach Fortfall des Stimulationsreizes offensichtlich reduziert. Die Rückbildung der Papillomatose zeigt sich in einer starken Verplumpung der Retezapfenform und einer geringeren Ausprägung des wellenförmigen Verlaufs der dermo - epidermalen Verbindungslinie (Abb. 11). Die gleichmäßig bandförmige Anordnung etwa 4 Lagen Keratohyalin - bildender Zellen deutet auf eine Verlangsamung und Normalisierung der Verhornungsvorgänge.

Verschiedene Autoren haben bereits auf die überaus starke akanthogene Wirkung des H D C hingewiesen (11, 57, 74, 75). Dies findet durch die von uns gemessenen Absolutgrößen eine ausdrückliche Bestätigung. Selbst die Anwendung von Crotonöl als dem stärksten Hyperplasie - Induktor vermag nur eine 4 fache Verdickung der Epidermis hervorzurufen (36). Direkt vergleichbar sind die nach Vitamin A - Säure Applikation gemessenen Größen, da entsprechende Untersuchungen am Meerschweinchenohr

vorgenommen wurden. Diese akanthogene Substanz erreicht mit einer 3,5 fachen Zunahme des Epidermisvolumens und einer 18 fachen Steigerung der Papillarkörperfläche nicht die Wirkung des H D C . Für die menschliche Epidermis bei psoriasiformen Hauterkrankungen sind weitere vergleichbare Angaben in der Literatur erhältlich. Aus der Zusammenstellung entsprechender Werte (Tabelle 2) ergibt sich der Hinweis, daß auch bei maximaler Stimulation die Zunahme des epidermalen Größenwertes auf das 4 - 5 fache begrenzt ist. Es bleibt ungeklärt, warum bei den genannten verschiedenartigen Hyperplasieformen das Wachstum der Epidermis auf etwa den gleichen Faktor beschränkt bleibt.

Bei der vorliegenden hochgradigen Stimulation der Epidermopoese und der exzessiven Hyperplasieentwicklung bleibt die Trennung in proliferierende und differenzierende Funktionszone erhalten, denn bei sämtlichen durchgeführten Versuchen konnte eine DNS - Neusynthese lediglich in den basalen Epidermisabschnitten nachgewiesen werden. Dieser Befund steht in Übereinstimmung mit den verschiedenen experimentellen Hyperplasien (30, 31, 46, 64, 76, 77, 83). Überraschend ist in diesem Zusammenhang das Ergebnis von Vitamin A - Säure Anwendung nach vorheriger Entfernung der Hornschicht. Es wurde eine hochgradige Stimulation der DNS - Synthese bis in die subcornealen Schichten beobachtet (22).

Tabelle 2

Größenverhältnisse von Epidermis und Papillarkörper
der Haut von Mensch und Meerschweinchen.

<u>Zunahme von Epidermisfläche</u>		<u>Papillarkörperfläche</u>	<u>Autor</u>
<u>Mensch</u>			
Psoriasis vulg.	4, 15 fach	9, 6 fach	(90)
	5, 79 " "	12, 0 " "	(25)
Psoriasif.			
Erythrdermie	4, 4 " "	5, 5 fach	(35)
<u>Meerschweinchen</u>			
Vitamin A Säure	3, 5 fach	18 fach	(20)
Hexadecan	4, 7 " "	34 " "	

C. Verkürzung der Generationszeit

Eine Zellpopulation mit strenger Funktionsteilung in proliferierende und differenzierende Fraktion wie die Epidermis kann theoretisch auf zweierlei Weise zu vermehrter Zellneubildung angeregt werden:

a) die Generationszeit proliferierender Zellen verkürzt sich bei

Gleichbleiben der Zahl

b) die Zahl teilungsfähiger Zellen vergrößert sich.

Wie im Folgenden besprochen wird, greifen bei der Hyperplasieentwicklung durch Anwendung von H D C beide Mechanismen ineinander. Bei kurzfristiger Stimulation der Epidermopoese wird die unter a) genannte Möglichkeit realisiert, und unter fortschreitender Behandlung tritt die unter b) genannte Form hinzu.

Die Zyklusdauer epidermalen Gewebes ausgewachsener Organismen unterschreitet normalerweise 120 bis 150 Stunden nicht. Diese Werte wurden an der Epidermis der Maus, der Ratte und auch des Menschen gefunden (23, 26, 68). Anhand der ^3H - markierten Mitosen - Kurve wurde an der H D C - behandelten Epidermis eine Generationszeit von rund 16 Stunden gemessen (Abb. 14), ein Wert, der demjenigen embryonalen Gewebe etwa entspricht (91). Der Schluß liegt nahe, daß eine erhebliche Verkürzung der Generationszeit unter H D C - Stimulation erfolgt.

Dies findet eine Bestätigung durch den anfänglich hochgradigen Anstieg ^3H - markierter Zellen, der ohne entsprechende Zunahme der Basalmembranlänge erfolgt. Vor Eintreten der " compartment " - Bildung bei noch weitgehend geradlinigem Verlauf der dermo - epidermalen Verbundzone kann die Länge der Basalmembran als relatives Maß für die Basalzellpopulation angesehen werden. Zu dieser Zeit bleibt die ^3H - Thymidin - Markierung im Wesentlichen auf die basale Zellschicht

beschränkt. Folglich beruht eine Zunahme des ^3H - Indexes nach einmaliger H D C - Applikation um das bereits 6 bzw. 11 fache (Abb. 6) in erster Linie auf einer Beschleunigung der Teilungsvorgänge proliferierender Zellen, ohne eine signifikante Vergrößerung ihrer Zahl (meßbar an der Basalmembranlänge, die nach einmaliger Behandlung fast keine Abweichung vom Normwert erkennen läßt, Abb. 5). In den histologischen Präparaten, die 24 Stunden nach der ersten H D C - Applikation gewonnen wurden, zeigt etwa jede 3. Basalzelle Silberkorn-schwärzung. Dies weist darauf hin, daß die teilungsaktiven Zellen durch Verkürzung der postmitotischen G_1 - Phase hochgradig synchronisiert in die S - Phase eintreten. Die Reduktion der Generationszeit gilt auch für die folgenden Teilungszyklen, denn die Basalzellpopulation ist auch 1 bis 2 Tage später erst geringgeradig angewachsen (Zunahme der Basalmembranlänge um etwa 10 %, Abb. 5), die Zahl ^3H - markierter Zellen hat hingegen bereits das 10 bis 14 fache des Ausgangswertes erreicht.

Im Zuge der " compartment " - Bildung unter fortschreitender Stimulation der Epidermopoese addiert sich zur genannten Verkürzung der Generationszeit eine hochgradige Zunahme der Zahl teilungsaktiver Zellen. Dies geschieht sowohl durch Anwachsen der Basalzellpopulation als auch durch Einbeziehung mehrerer suprabasaler Zellagen der Retezapfen in den proliferativen Zellpool.

Interessant ist in diesem Zusammenhang, daß die Basalmembranlänge (und entsprechend die Basalzellpopulation) in einem Zeitraum ständig weiter zunimmt, in dem die Zahl ^3H - markierter Zellen gleichbleibt (10. - 21. Tag, Abb. 5 und Abb. 6). In den histologischen Präparaten findet sich kein Hinweis dafür, daß die Ausbreitung proliferierender Zellen über 2 - 3 suprabasale Lagen der Retezapfen abnimmt. Es läßt sich schließen, daß mit der Basalmembranlänge die Zahl teilungsfähiger

Zellen ohne Zunahme des Markierungsindex anwächst. Folglich sind die einzelnen Zellen der proliferativen Zone bei steady - state Bedingung zunehmend seltener in der S - Phase anzutreffen. Dies bedeutet, daß nach Erreichen einer maximalen Zellneubildungsrate die Generationszeit unter fortschreitender Stimulation wieder größer wird. Da bei den vorliegenden Untersuchungen die Zyklusdauer im Zeitraum des hochgradigen Zellzuwachses bestimmt wurde, steht eine Bestätigung der angestellten Unterlegung durch entsprechende Untersuchungen unter steady - state Bedingungen aus.

Ein weiterer Hinweis auf eine Verkürzung der Generationszeit proliferierender Zellen liegt in der bereits nach 2 maliger Behandlung eintretenden Reduktion der Mauserungszeit des epidermalen Gewebes. Wie besprochen beschränkt sich zu diesem Zeitpunkt die ^3H - Markierung fast ausschließlich auf das geringfügig vergrößerte Basalzellager. Da die germinative Zellfraktion dennoch in der Lage ist, die differenzierende innerhalb von 60 Stunden zu ersetzen, ist der Grund in einer hochgradigen Beschleunigung der Teilungsvorgänge zu suchen.

Im Folgenden wird die Bedeutung einzelner Teilphasen für die Generationszeit anhand der vorliegenden Meßergebnisse untersucht.

Bei der Hyperplasie durch Anwendung von H D C wurde eine S - Phasendauer von 7,2 Stunden gemessen. Angesichts der sowohl an Ohrepithelien als auch Rückenhaut erhobenen neueren Befunde von 9 - 9,5 Stunden Dauer (82, 25), weist dieser Wert auf eine Verkürzung der Synthesevorgänge. Wie Untersuchungen an etlichen Zellarten verschiedener Tierspezies gezeigt haben, ist die S - Phasendauer und damit der Lebensabschnitt einer Zelle, der unmittelbar der Reproduktion zuzuordnen ist, relativ konstant. Bei Geweben ausgewachsener Tiere wird ein Wert von 6 bis 8 Stunden nicht überschritten (19, 18). Bis jetzt bekannte Ausnahmen bilden die Spermatogonien der Ratte und Maus, Leber - und Tubulusepithelien der

Ratte, alveoläre Zellen der Brustdrüse und die Ohrepithelien der Maus. Für letztere fanden SHERMAN, QUASTLER und WIMBER durch Ermittlung der Prozent markierte Mitosen einen Wert von 30 Stunden (80). Andere Autoren fanden bei der genannten Gewebsart immerhin eine S - Phasendauer von 16 Stunden (69).

Die hochgradige Beschleunigung der Generationsvorgänge nach H D C - Behandlung kann nicht hinreichend durch die Verkürzung der S - Phase um etwa 23 % erklärt werden. Da die G_2 - Phase und Mitosedauer Übereinstimmung mit den entsprechenden Werten unbehandelter Meerschweinchenepidermis aufweist (25), bleiben auch diese Lebensabschnitte der Zellen in ihrem zeitlichen Ablauf unbeeinflusst. Nun konnten besonders PILGRIM und MAURER bei Gewebearten unterschiedlicher Generationszeit zeigen, daß die Variabilität auf der großen Schwankungsbreite der G_1 - Phase, dem Zeitraum zytoplasmatischer Wachstums - und Differenzierungsvorgänge, beruht. Unter Zugrundelegen des Normalwertes der epidermalen Zellzyklusdauer von rund 120 Stunden (68, 25) und unter Berücksichtigung der relativen Konstanz von $G_2 + M + S$ bedeutet eine G_1 - Phasendauer von 4, 8 Stunden, wie sie bei der Hyperplasie durch H D C gemessen wurde, eine Verkürzung dieses Lebensabschnittes um etwa 2000 %.

In diesem Zusammenhang ist ein Vergleich mit den Proliferationsgrößen bei der malignen Hyperplasieentwicklung von Interesse. DÖRMER und Mitarbeiter stellen entsprechende Untersuchungen bei der Verwendung des karzinogenen Kohlenwasserstoffes Methylcholantren an (27). Die Autoren fanden anhand von Mitosezählung, daß auch das akanthotische Stadium des experimentellen Hautkarzinoms eine Zunahme der Zellproliferation durch Verkürzung der Zellzyklusdauer aufweist. Durch Teilphasen - Messung wurde auch für den malignen Prozeß eine

hochgradige Beschleunigung der G_1 - Phasendauer nachgewiesen. Die Erneuerungszeit des hyperplastischen Gewebes wurde von den genannten Autoren nicht bestimmt, so daß ein Vergleich über die Lebensdauer differenzierender Zellelemente nicht angestellt werden kann.

D. Wirkungsmechanismus

Der Mechanismus, der für den DNS - Syntheseanstieg nach H D C - Applikation verantwortlich ist, bleibt im einzelnen ungeklärt. Eine gesteigerte proliferative Aktivität weisen Mausepithelgewebe im Rahmen der Heilung (Reparation) z. B. nach Schnittverletzung oder Zellverlust auf (32, 38, 39, 47, 48, 88). Dabei handelt es sich um den Ersatz zerstörter Anteile durch neugebildete Strukturen unter Verlust der ursprünglichen Architektur (40). In der H D C - behandelten Epidermis tritt jedoch eine morphologisch sichtbare Schädigung oder Degeneration von Zellen nur vereinzelt und erst nach voller Ausprägung sämtlicher Veränderungen auf. Ein reparatives Geschehen um Ausgleich eines durch Noxe entstandenen Zelldefizides ist somit ausgeschlossen.

Ebenfalls die vollständige Entfernung der Hornschicht, der eine Barriere - Funktion zugeschrieben wird, fördert die stimulierende Wirkung des H D C nicht. Hingegen tritt eine kurzfristige Hemmung der DNS - Syntheseaktivität auf (Abb. 7), über die anhand der vorliegenden Befunde naturgemäß keine genaue Aussage gemacht werden kann. Interessant ist in diesem Zusammenhang, daß entsprechende Versuche bei Anwendung der akanthogenen Vitamin A - Säure in den ersten 24 Stunden zu einer hochgradigen Stimulation der DNS - Synthese bis in die subcornealen Schichten führten.

Es scheinen gewisse Beziehungen zwischen Hornbildung und DNS - Syntheseaktivität zu bestehen, da beide nach vorheriger Entfernung des Stratum corneum zeitlich korreliert in Erscheinung treten. (Wie bereits beschrieben, setzt die Keratohyalin - Bildung etwa 48 Stunden nach Versuchsbeginn, zum Zeitpunkt der hochgradigen Zunahme ^3H - markierter Zellen, wieder ein, Abb. 7). Die Steuerung der Epidermopoese durch einen verhornungsabhängigen Rückkopplungsmechanismus wäre denkbar, eine Anschauung, die von verschiedenen Autoren vertreten wird (13-16, 55, 56). Dieser Regelkreistheorie entsprechend ließe sich folgern, daß das H D C primär eine morphologisch nicht weiter in Erscheinung tretende Störung der Keratinisation hervorruft, die sekundär eine Zunahme der Zellneubildung bewirkt.

V. Zusammenfassung

Gegenstand der vorliegenden Arbeit ist die autoradiographische Untersuchung einer benignen Epidermis - Hyperplasie nach Anwendung des aliphatischen Kohlenwasserstoffes Hexadecan ($C_{16}H_{34}$). Es wurden dabei quantitative Analysen der Epidermisdicke, des Papillarkörpers, der Basalmembranlänge und der Zahl DNS - synthetisierender Zellen durchgeführt. Weiterhin wurden die Erneuerungszeit und die Dauer des Generationszyklus der Epidermis bestimmt.

Die Untersuchungen ergaben:

- a) eine Begrenzung der Dickenzunahme auf das 4, 7 fache des Ausgangswertes bei fortschreitender Ausbildung der Papillomatose.
- b) eine maximale Steigerung der DNS - Syntheseaktivität der basalen Epidermisabschnitte auf das 15 bzw. 20 fache des Ausgangswertes. Gleichzeitig erfolgt eine Verlagerung der proliferativen Zentren in die Retezapfen (" compartmentalisation ").
- c) eine hochgradige Beschleunigung der Mauserungszeit von normalerweise 14 Tagen auf 3 Tage.
- d) eine Verkürzung der Zellzyklusdauer auf etwa 16 Stunden. Die Dauer der S - Phase ist um 23 % und der Zeitraum der G_1 - Phase um etwa 2000 % des Ausgangswertes reduziert.

Es werden die zeitliche und dosisabhängige Korrelation dermo - epidermaler Reizbeantwortung diskutiert und folgende wesentliche Schlüsse gezogen:

- a) Im Zuge der Hyperplasieentwicklung wird nach etwa 10 - 12 Tagen ein neues Gleichgewicht der epidermalen Größen erreicht. Bis zu diesem Zeitpunkt laufen die Zunahmen von dermalem und epidermalem Gewebeanteil streng parallel, anschließend vergrößert sich nur noch die dermale Komponente.
- b) bei Anwendung von reinem Hexadecan ist neben einer vermehrten compartment - Bildung die proliferierende Zellfraktion auf Kosten des differenzierenden Anteils erhöht.

Die Wanderungskinetik postmitotischer Epidermiszellen sowie die Möglichkeiten zur Ausbildung der Papillomatose werden besprochen. Wesentlich ist die Tatsache, daß die unter H D C - Behandlung gemessene Mauserungszeit von etwa 3 Tagen der minimalen Reifungszeit verhornender Epidermiszellen entspricht. Diese wird unabhängig von der Dicke des differenzierenden Gewebeabschnittes eingehalten.

Wesentliche Voraussetzung für das Entstehen einer derartigen Hyperplasie ist sowohl das numerische Anwachsen der proliferativen Zellfraktion als auch die Generationszeitverkürzung mit DNS - Synthesesteigerung.

Die Frage nach dem biochemischen Wirkungsmechanismus des Kohlenwasserstoffes Hexadecan muß unbeantwortet bleiben.

1. BADE, E. G. , I. L. SADNIK, C. PILGRIM und W. MAURER: Autoradiographic study of DNA-syntheses in the regenerating liver of the mouse.
Exp. Cell Res. 44, 676-678 (1966)
2. BARTALANFFY, F.D.: Tritiated Thymidine Versus Colchicine Technique in the study of Cell Population Cytodynamics.
Lab. Invest. 13, 871-886 (1964)
3. BERRES, H.H.: Morphologie und Genese der Hautveränderungen durch Salben.
Arch. Klin. exp. Derm. 203, 556-569 (1956)
4. BLENKINSOPP, W.K.: Duration of Availability of Tritiated Thymidine Following intraperitoneal Injektion.
J. Cell Sci., 3, 91-95 (1968)
5. BRESCIANNI, F.: Cell Proliferation in Cancer
Europ. J. Canc., 4, 343-366 (1968)
6. BROOKS, S.C. and BAUMANN, C.A.: Skin sterols. X. Studies with certain hyperplasia inducing hydrocarbons.
Cancer Res., 16;357 (1956)
7. BRUN, R., E. BUJARD et W. JADASSON: Effet acanthogène d'acides et alcools aliphatiques appliqués sur le flanc de cobaye.
Dermatologica (Basel) 115, 35-39 (1957)
8. BRUN, R., E. BUJARD et W. JADASSON: Effet de divers onguents sur l'épiderme du cobaye. (Acanthose et poussée mitotique)
Dermatologica 111, 107-110 (1955)
9. BUJARD, E., W. JADASSON et R. BRUN: De l'effet prolongé d'une seule application locale d'un oestrogène sur la tétine du cobaye mâle.
Dermatologica (Basel) 110, 232-235 (1955)
10. BUJARD, E., R. BRUN et W. JADASSON: Expériences sur l'acanthose chez le cobaye.
Dermatologica (Basel) 114, 171-176 (1957)
11. BUJARD, E., JADASSON, W. and PAILLARD, R.: Action de quelques hydrocarbures sur l'épiderme.
Dermatologica (Basel) 106, 161 (1953)

12. BUTCHER, E. O. : The effects of application of various substances on the epidermis of the rat.
Invest. Derm. 16, 85-90 (1951)
13. BULLOUGH, W. S. : Growth Control in Mammalian Skin.
Nature 193, 520-523 (1962)
14. BULLOUGH, W. S. : Mitotic and functional Homeostasis.
A Speculative Review.
Cancer Res. 25, 1683-1727 (1965)
15. BULLOUGH, W. S. and E. B. LAURENCE: The control of epidermal Mitotic activity in mouse.
Proc. Roy. Soc. B 151, 517-36 (1960)
16. BULLOUGH, W. S. and E. B. LAURENCE: Tissue Homeostasis in adult mammals.
Advances in biology of skin. Vol. III; Carcinogenesis 1-36
Hsgb. W. Montagna and R. L. Dobson.
Oxford, New York: Pergamon 1966
17. CAIRNIE, A. B. , L. F. LAMERTON and G. G. STEEL: Cell proliferation studies in the intestinal epithelism of the rat.
I. Determination of the kinetic parameters.
II. Theoretical Aspects.
Exp. Cell Res. 39, 528-338 (1965)
39, 539-545 (1965)
18. CAMERTON, I. L. and R. C. GREULICH: Evidence for an essentially constant duration of DNS synthesis in the renewing epithelium of mouse.
J. Cell Biol. 20, 18-31 (1963)
19. CAMERTON, I. L. : Is the duration of DNA-Synthesis in somatic cells of mammals and birds a constant?
J. Cell Biol. 20, 185-194 (1964)
20. CHRISTOPHERS, E. : Wachstumsdynamik von Epidermis und Papillarkörper nach lokaler Applikation von Vitamin A-Säure. Biometrische Untersuchungen am Meerschweinchenohr.
Arch. Klin. exp. Derm. , 233, 99-106 (1968)

21. CHRISTOPHERS, E. und O. BRAUN-FALCO: Epidermale Regeneration am Meerschweinchenohr nach Hornschichtabriß. Eine autoradiographische Untersuchung.
Arch. Klin. exp. Derm., 231, 85-96 (1967)
22. CHRISTOPHERS, E. und O. BRAUN-FALCO: Stimulation der epidermalen DNS-Synthese durch Vitamin A-Säure.
Arch. Klin. exp. Derm., 232, 427-433 (1968)
23. CHRISTOPHERS, E. und E. SCHAUMLÖFFEL: Zur DNS-Synthesezeit in der menschlichen Epidermis.
Arch. Klin. exp. Derm., 228, 57-64 (1967)
24. CHRISTOPHERS, E.: Die Wanderungskinetik postmitotischer Epidermiszellen. Autoradiographische Untersuchungen.
Arch. Klin. exp. Derm., 236, 161-172 (1970)
25. CHRISTOPHERS, E.: Habilitationsschrift München 1969.
26. DEVIK, F.: Studies in the duration of DNA-synthesis and mitosis in irradiated and regenerating epidermiscells in mice, by means of tritium-labelled Thymidine.
Int. J. Radiat. Biol., 5, 59-66 (1962)
27. DÖRMER, P., H. TULINIUS and W. Oehlert: Untersuchungen über die Generationszeit, DNS-Synthesezeit und Mitosedauer von Zellen der Hyperplastischen Epidermis und des Plattenepithelcarcinoms der Maus nach Methylcholanthrenpinselung.
Z. Krebsforsch. 66, 11-23 (1964)
28. DUNAIF, CH. B. and J. C. FINERTY: The Effects of Estrogen Administration Upon Epidermal Proliferation.
J. invest. Derm., 15, 363-371 (1950)
29. EARTHY, H., B. GRAD and C. B. LE BLOND: The Antagonistic Relationship Between Testosterone And Thyroxine In Maintaining The Epidermis Of The Male Rat.
Endocrinology 49, 677-686 (1951)

30. ELGJO, K.: Growth kinetics of the mouse epidermis after a application of 3, 4-Benzpyrene, Croton oil or 1, 2-Benzpyrene.
Acta path. micrbiol. scandinav. 73, 183-190 (1968)
31. ELGJO, K.: Epidermal cellpopulation kinetics after repeated applications of some hyperplasia-producing substance
Europ. J. Cancer 4, 183-189 (1968)
32. EPSTEIN, W. L. and D. I. SULLIVAN: Epidermal mitotic activity in wounded human skin. 83-95
In: Wound Healing, W. Montagna (hsgb.)
Pergamon Press New York (1964)
33. EPSTEIN, W. L. and H. T. MAIBACH: Cell renewal in human epidermis.
Arch. Derm., 92, 462-468 (1965)
34. FROST, P., G. D. WEINSTEIN and E. J. van SCOTT: The icht'yoiform der-
matoses
II. Autoradiographic studies of epidermal proliferation.
J. invest. Derm., 47, 561-567 (1966)
35. FROST, P. and E. J. van SCOTT: Ichthyosiform Dermatoses.
Arch. Derm., 94, 113-126 (1966)
36. FREI, J. V. and P. STEPHENS: The correlation of promotion of tumor growth and of induction of hyperplasia in epidermal two-step carcinogenesis.
Brit. J. Cancer 22, 83-92 (1968)
37. GAUDIN, P.: Acnthose par chrysarobine, vaseline et frottement.
Dermatologica Basel, 97, 208-215 (1948)
38. GIACOMETTI, L.: The healing of skin wounds in primates.
I. The kinetics of cell proliferation
J. invest. Derm. 48, 133-134 (1967)
39. GIACOMETTI, L. and W. MONTAGNA: The healing of skin wounds in primates.
II. The proliferation of epidermal cell melanocytes
J. invest. Derm., 50, 273-275 (1968)

40. GILLMAN, T. : Possible Importance of Dermal-Epidermal Interactions in
The Pathogenesis of Human and Experimental Wound Healing
and Skin Cancers.
In: Progress in the Biological Sciences in Relation to Derma-
tology 2, 113-133
A. Rook and R. H. Champion (Hsgb.)
Cambridge University Press 1964
41. GOLDZIEHER, J. W. , ROBERTS, J. S. , RAWELS, W. B. and M. A. GOLDZIEHER:
Local Action of Steroids on senile Human Skin.
Arch. Derm. (Chicago) 66, 304-315 (1952)
42. GOSS, J. : Kinetics of Compensatory Growth.
Quart. Rev. Biol. 40, 126-146 (1965)
43. HEITE, H. J. , KOCH, H. J. : Über die experimentelle Acanthose unter einer
luftdicht abschließenden Kapsel.
Arch. Klin. exp. Derm. 212, 365-373 (1961)
44. HEITE, H. J. und C. ULRICH: Epidermisdicke, Zellzahl und Mitoserate in
der Meerschweinchenhaut unter Einfluß verschiedener Röntgen-
strahlen.
Arch. Klin. exp. Derm. 210, 625-640 (1960)
45. HEITE, H. J. und HIRTE, H. : Zur tierexperimentellen Auslösung der Acan-
those durch Röntgenstrahlen
Hautarzt 10, 72-76 (1959)
46. HEITE, H. J. und W. MATHIESSEN: Über die experimentelle Acanthose
nach örtlicher Anwendung von Nikotinsäure-Ester.
Dermatologica 135, 433-442 (1967)
47. HELL, E. : The effect of injury upon epidermal mitotic indices in guinea pig.
Exp. Cell Res. 32, 354-357 (1963)
48. HELL, E. A. , C. N. D. CRUICKSHANK: The effect of injury upon the uptake
of ^3H -Thymidine by Guinea pig epidermis.
Exp. Cell Res. 31, 128-139 (1963)

49. HODORA, M. : Histologische Untersuchungen über die Wirkung des Chrysarobins.
Prakt. Derm. 30, 53-69 (1900)
31, 261-268 (1900)
50. HOECKSTRA, W. G. , DICKE, R. J. and PHILLIPS, P. H. : Production of hyperkeratosis in calves with topically applied oil-based insecticide carrier.
Amer. J. Vet. Res. 15, 47 (1957)
51. HOECKSTRA, W. G. , DICKE, R. J. and PHILLIPS, P. H. : Further studies on the production of hyperkeratosis in calves with topically applied base-oils for use in livestock sprays.
J. Dairy Sci. , 38, 186 (1955)
52. HOECKSTRA, W. G. and PHILLIPS, P. H. : Effects of topically applied mineral oil fractions on the skin of guinea pigs.
J. invest. Derm. 40, 79 (1963)
53. HOWARD, A. , PELC, S. R. : Nuclear incorporation of P^{32} as demonstrated by autoradiographs.
Exp. Cell Res. 2, 178-187 (1951)
54. HUNTER, R. , H. PINKUS and C. H. STEELE: Examination of the epidermis by the strip method.
J. invest. Derm. 27, 31-39 (1956)
55. IVERSEN, O. H. and A. EVENSEN: Experimental skin carcinogenesis in mice.
Norwegian Monographs on Medical Science
Norwegian Universities Press, Oslo 1962
56. IVERSEN, O. H. : Kinetics of epidermal reaction to carcinogens and other skin irritants.
In: Advances in Biology of skin, 37-54
W. Montagna and R. L. Dobson (Hsgb.)
Pergamon Press, Oxford, London, New York (1966)

57. KIRK, D. L. and W. G. HOECKSTRA: Hexadecane induced Hyperkeratinisation of Guinea pig skin.
I. Changes in epidermal weight and water binding.
J. invest. Derm. 43, 93-98 (1964)
58. KLIGMAN, A. M.: The biology of the stratum corneum.
In: The Epidermis, 387-433
W. Montagna and W. C. Lobitz (Hrsg.) London-New York:
Academic Press 1964
59. KLIGMAN, A. M. and E. CHRISTOPHERS: Preparation of isolated sheets of human stratum corneum.
Arch. Derm. 88, 702-705 (1963)
60. KALKOFF, K. W. and W. BORN: Zur Desoxyribonucleinsäure-Synthese in psoriatischer Epidermis unter Fluocinolonacetamid.
Hautarzt 16, 534-539 (1965)
61. LIPKIN, M. and E. DESCHNER: Comparative Analysis of Cell Renewal in Gastrointestinal Tract of Newborn Hamster.
Exp. Cell Res. 49, 1-12 (1968)
62. LIPKIN, M.: Cell Replication in the Gastro-intestinal Tract of Man.
Gastroenterology 48, 616-622 (1965)
63. LIPKIN, M. and H. QUASTLER: Cell population Kinetics in the colon of the mouse.
J. clin. Invest. 41, 141-146 (1962)
64. McCARTER, J. A. and H. QUASTLER: Effect of dimethylbenzanthracene on the cellular poliferation cycle.
Nature (Lond.) 194, 873 (1962)
65. McKENZIE, A. W.: Histological changes in psoriasis treated with topical fluocinolone and occlusion.
Brit. J. Derm. 15, 434-440 (1963)

66. MESSIER, B. and C.B. LEBLOND: Cell proliferation and Migration as revealed by autoradiography after injection of Thymidine-³H into small rats and mice.
Amer. J. Anat. 106, 247-285 (1960)
67. PELC, S.R.: Autoradiograph technique
Nature 160, 749-750 (1947)
68. PILGRIM, C. und W. MAURER: Autoradiographische Untersuchung über die Konstanz der DNS-Verdopplungsdauer bei Zellarten von Maus und Ratte durch Doppelmarkierung mit ³H- und ¹⁴C-Thymidin.
Exp. Cell Res. 37, 187-199 (1965)
69. PILGRIM, C., W. LANG und W. MAURER: Autoradiographische Untersuchungen der Dauer der S-Phase und des Generationscyclus der Basalepithelien des Ohres der Maus.
Exp. Cell Res. 44, 129-138 (1966)
70. PINKUS, H.: Examination of the epidermis by the strip method of removing horny layers.
J. invest. Derm. 16, 383 (1951)
71. PINKUS, H.: Examination of the epidermis by the strip method.
II. Biometric data on regeneration of the human epidermis.
J. invest. Derm. 19, 431-446 (1952)
72. QUASTLER, H.: The analysis of cell population kinetics.
In: Cell Proliferation.
L. F. Lamerton and R. J. M. Frey (Hsgb.)
F.A. Davis Co Philadelphia, 18-31 (1963)
73. REIZENSTEIN, P., E. SKOG and P. STIGELL: Radio-Ion Content of Epithelium and Cell Turnover in Psoriasis.
Acta derm.-venerol. 48, 70-74 (1968)
74. ROSSMILLER, J. D. and W. G. HOECKSTRA: Hexadecane - Induced Hyperkeratinisation of Guinea Pig Skin.
III. Cutaneous Penetration of Topically Applied Hexadecane
-1-C-14
J. invest. Derm. 47, 39-43 (1966)

75. ROSSMILLER, J. D. and W. G. HOECKSTRA: Hexadecane - Induced Hyperkeratinisation of Guinea-Pig Skin.
IV. A Comparison of Free Amino Acid Levels in Normal and Hyperkeratotic Epidermis.
J. invest. Derm. 47, 44-48 (1966)
76. SCHAAF, F.: Die Epidermisverbreiterung im Tierexperiment.
Derm. Wschr. 139, 297-305 (1959)
77. SCHAAF, F. und F. GROSS: Tierexperimentelle Untersuchungen mit Salben und Salbengrundlagen.
Dermatologica 106, 5 357-378 (1953)
78. SCHAAF, F. und F. GROSS: Die Reaktion der Haut gegenüber äußerlich applizierten Stoffen.
Dermatologica 106, 170-175 (1953)
Dermatologica 123, 362-374 (1961)
79. SCHAAF, F. und F. GROSS: Tierexperimentelle Untersuchungen über den Einfluß von Steroiden auf die Haut.
Arch. Klin. exp. Derm. 222, 350-364 (1965)
80. SHERMAN, F. G., H. QUASTLER and D. R. WIMBER: Cell Population Kinetics in the Ear Epidermis of Mice.
Exp. Cell Res. 25, 114-123 (1961)
81. SISKEN, J. E. and L. MOSCONA: Intrapopulation Kinetics of the Mitotic Cycle.
J. Cell Biol. 25, 179-185 (1965)
82. SONG, C. W. and J. TABACHNICK: Epidermal cell population kinetics in albino guinea pig skin.
Nature 217, 650-651 (1968)
83. STEIGLEDER, G. K. und O. GANS: Pathologische Reaktionen der Epidermis.
In: Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten,
Ergänzungswerk 1/2, 178-298
Springer Berlin-Göttingen-Heidelberg-New York 1964

84. STEIGLEDER, G. K. : Die Struktur der Haut als Grundlage ihrer Leistung und ihrer Erkrankung.
Handbuch der allgemeinen Pathologie, F. Büchner, E. Letterer und F. Roulet. Bd. III/2
Springer Berlin-Göttingen-Heidelberg 1960
85. STEIGLEDER, G. K. : Allgemeine Pathologie der Haut.
Dermatologie und Venerologie. H. A. Gottron und W. Schönfeld
Bd. I/4, 253-338
Georg Thieme, Stuttgart 1961
86. STEIGLEDER, G. K. und W. BUCHWALD: Experimentelle Untersuchungen zum Verhalten der verbreiterten Rattenepidermis.
Hautarzt 8, 505-509 (1957)
87. STUDER, A. und J. R. FREY: Wirkung von Cortison auf die ruhende und die mit Vitamin A oder Testosteronpropionat zur Proliferation gebrachte Epidermis der Ratte.
Dermatologica 104, 1-18 (1952)
88. SULLIVAN, D. J. and W. L. EPSTEIN: Mitotic activity of wounded human epidermis.
J. invest. Derm. 41, 39-48 (1963)
89. THRASHER, J. D. and R. C. GREULICH: The duodenal progenitor population.
II. Age-related changes in size and distribution.
J. exp. Zool. 159, 385-396 (1965)
90. VAN SCOTT, E. J. and T. M. EKEL: Kinetics of hyperplasia in psoriasis.
Arch. Derm. 88, 373-381 (1963)
91. WEGENER, K., S. HOLLWEG und W. MAURER: Autoradiographische Bestimmung der DNS-Verdopplungszeit und anderer Teilphasen des Zellzyklus bei fetalen Zellarten der Ratte.
Zschr. f. Zellforsch. 63, 309-326 (1964)

92. WEINSTEIN, G. D. and E. J. VAN SCOTT: Autoradiographic analysis of turnover times of normal and psoriatic epidermis.
J. invest. Derm. 45, 257-262 (1965)
93. WILLIAMS, M. G. and R. HUNTER: Studies on epidermal regeneration by means of the strip method.
J. invest. Derm. 29, 407-413 (1957)
94. WILLIAMS, M. G.: The response of the Human Epidermis to the Application of carcinogenic Hydrocarbons.
J. invest. Derm. 30, 13-20 (1958)
95. WOLF, F.: Die innere Struktur der Zellen des Stratum desquamans der menschlichen Epidermis.
Z. Mikro. Anat. Forsch. 46, 170-184 (1939)

Herrn Privatdozent Dr. med. Enno Christophers danke ich herzlich für die Anregung und freundliche Unterstützung dieser Arbeit und Fräulein Brigitte Klahre für die Hilfe in technischen Fragen. Herrn Professor Dr. med. Otto Braun - Falco verdanke ich die Möglichkeit, an seiner Klinik zu arbeiten.

Lebenslauf

Am 7. 10. 1943 wurde ich, Christine Müller, in Lindau, Kreis Duderstadt, geboren. Nach vier Jahren Volksschule in Bonn besuchte ich das Mädchengymnasium St. Leonhard in Aachen, wo ich im März 1963 das Abitur ablegte.

Nach einem Semester an der Technischen Hochschule in Aachen begann ich im Wintersemester 1963/64 das Medizinstudium an der Universität Köln. Dort absolvierte ich im Oktober 1966 das Physikum. Anschließend studierte ich mit Ausnahme eines Semesters in Düsseldorf (Wintersemester 1966/67) an der Medizinischen Fakultät in München. Am 19. 12. 1969 bestand ich die ärztliche Prüfung.

Am 1. Juli wurde die Christiane Schütz in einem Hause
 geboren. Mutter: Frau Johanne Schütz, Vater:
 Johann Schütz, geb. 18. März 1800 in ...
 Am 1. Juli 1892 ist Anna Schütz

geb. 18. März 1800 in ...
 gestorben. Am 1. Juli 1892 ist Anna Schütz
 geboren. Mutter: Frau Johanne Schütz, Vater:
 Johann Schütz, geb. 18. März 1800 in ...
 Am 1. Juli 1892 ist Anna Schütz
 geboren. Mutter: Frau Johanne Schütz, Vater:
 Johann Schütz, geb. 18. März 1800 in ...
 Am 1. Juli 1892 ist Anna Schütz

